

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS  
Programa de Pós-Graduação em Veterinária



**Dissertação**

**Bacteriostasia, citotoxicidade, atividade  
antioxidante e sinergismo com antibacterianos  
comerciais de plantas bioativas com indicativo  
medicinal**

**Carolina Lambrecht Gonçalves**

Pelotas, 2014

**CAROLINA LAMBRECHT GONÇALVES**

**Bacteriostasia, citotoxicidade, atividade antioxidante e sinergismo com antibacterianos comerciais de plantas bioativas com indicativo medicinal.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (Área do conhecimento: Sanidade Animal).

Orientador:

Dr. Luiz Filipe Damé Schuch

Pelotas, 2014

Dados de catalogação na fonte:  
( Gabriela Machado Lopes – CRB-10/1842 )

G635b Gonçalves, Carolina Lambrecht

Bacteriostasia, citotoxicidade, atividade antioxidante e sinergismo com antibacterianos comerciais de plantas bioativas com indicativo medicinal / Carolina Lambrecht Gonçalves; orientador Luiz Filipe Damé Schuch - Pelotas, 2014.

91 f.

Dissertação (Mestrado) Programa de Pós- Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2014.

1. Plantas medicinais 2. Atividade antimicrobiana 3. Antioxidantes naturais 4. Citotoxicidade de extratos vegetais I. Schuch , Luiz Filipe Damé (orientador) II.Título.

CDD 581.634

**Banca examinadora:**

Dr. Gilberto Antônio Peripolli Bevilaqua

Dr<sup>a</sup>. Helen Silveira Coimbra

Dr<sup>a</sup>. Sílvia Regina Leal Ladeira

## **Agradecimentos**

Agradeço aos meus pais, Danúbio e Irani, por todo amor, dedicação e incentivo durante todos esses anos e por me possibilitarem essa trajetória.

Ao meu namorado Ryan, agradeço com todo amor e carinho, por todos os nossos dias juntos.

A minha irmã Cristiane, por estar sempre presente, e ao meu sobrinho Davi, pelas alegrias dadas a nossa família.

Ao meu orientador Luiz Filipe Damé Schuch, pela oportunidade, pelos ensinamentos e confiança construída durante esses anos. A Helen Coimbra por toda dedicação, paciência e amizade. Agradeço a ambos pelo exemplo de profissionais e pessoas que são.

Pelo companheirismo e auxílio na execução dos experimentos, agradeço a Diane, Tássia, Fernanda, Josiane e Paulo Ricardo, bem como aos professores, Rui Zambiasi e Silvia Hübner, obrigada pela oportunidade de trabalharmos juntos. As minhas queridas e grandes amigas que me acompanharam e sempre me acompanham Ângela, Cristina, Diane, Gracialda, Josiara, Marília e Tássia. Obrigada por tornarem os momentos mais prazerosos. Por me auxiliarem no decorrer desses anos, agradeço aos estagiários do Laboratório de Bacteriologia, Bianca, Cristiane, Lisiane e Viviane e aos integrantes do Laboratório Regional de Diagnóstico, Carla, Renata e Sílvia. Obrigada por todo apoio.

Agradeço a banca, Dr. Gilberto Bevilaqua, Dr<sup>a</sup> Helen Coimbra e Dr<sup>a</sup> Sílvia Ladeira pela disposição e disponibilidade.

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram e participaram deste processo, e com quem compartilhei estes últimos anos.

Obrigada

## Resumo

GONÇALVES, Carolina Lambrecht. **Bacteriostasia, citotoxicidade, atividade antioxidante e sinergismo com antibacterianos comerciais de plantas bioativas com indicativo medicinal**. 2014. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana, antioxidante, os efeitos citotóxicos, fitoquímica e a interação de dez plantas com seis antibióticos. A atividade antimicrobiana dos extratos hidroalcoólicos foi analisada pelo método de macrodiluição frente a isolados de *Staphylococcus* spp e *E.coli*. Quanto a fitoquímica, avaliou-se a presença de compostos fenólicos, taninos e carotenóides. A atividade antioxidante foi detectada pela capacidade de neutralização do DPPH e os efeitos citotóxicos por meio do teste de Vermelho neutro. As análises fitoquímicas indicaram diferentes valores de compostos fenólicos, de taninos e escassas concentrações de carotenóides nas amostras. Os resultados demonstraram uma maior sensibilidade das bactérias Gram positivas frente aos extratos, sendo *S. cumini* o mais efetivo com CIM de 0,08 à 0,74mg/mL para *Staphylococcus* spp e o extrato de *S.terebinthifolius* o mais eficiente frente a *E.coli*, com CIM de 0,8 à 3,3 mg/mL. *Staphylococcus* apresentou uma maior susceptibilidade às interações entre antimicrobianos, havendo efeitos sinérgicos frente a cinco dos seis antibióticos utilizados nas associações com *T.minuta* e *R.officinalis*, enquanto que *E.coli* apresentou os melhores resultados com o extrato de *S.terebinthifolius*. Os extratos apresentaram-se como antioxidantes, destacando-se a folha de *S.terebinthifolius* e de *E.uniflora*, inibindo o DPPH na concentração de 0,17 mg/mL. Na citotoxicidade, *P.cattleianum* foi a espécie menos nociva, com uma viabilidade celular de 100% na concentração de 2,84 mg/mL. Estes resultados possibilitam a caracterização das espécies vegetais quanto as suas propriedades biológicas e seus efeitos citotóxicos, sendo de relevância na elaboração de novos fitoterápicos e quanto ao seu uso pela população.

Palavras-chave: Plantas medicinais. Atividade antimicrobiana. Antioxidantes naturais. Citotoxicidade.

## Abstract

GONÇALVES, Carolina Lambrecht. **Bacteriostasia, citotoxicidade, atividade antioxidante e sinergismo com antibacterianos comerciais de plantas bioativas com indicativo medicinal**. 2014. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The aim of this study was to evaluate the antimicrobial, antioxidant, cytotoxic effects, phytochemical and interaction of ten plants with six antibiotics. The antimicrobial activity of hydroalcoholic extracts were analyzed by method macrodilution against *Staphylococcus* spp and *E.coli*. As phytochemical the presence of phenolic compounds, tannins and carotenoids is evaluated. The antioxidant activity was detected by neutralizing capacity of DPPH and cytotoxic effects through the Neutral Red test. The phytochemical analysis indicated different amounts of phenolic compounds, tannins and sparse concentrations of carotenoids in samples. The results showed a higher sensitivity of Gram-positive bacteria against to the extracts the *S. cumini* the most effective with MIC of 0.08 to 0.74 mg/mL for *Staphylococcus* spp and extract *S.terebinthifolius* more efficient for *E. coli* with an MIC of 0.8 to 3.3 mg/mL. *Staphylococcus* showed an increased susceptibility to interactions between drugs, with synergistic effects against five of the six antibiotics used in association with *T.minuta* and *R.officinalis*, while *E. coli* showed the best results with the extract *S.terebinthifolius*. The extracts were presented as antioxidants, highlighting the sheet *S.terebinthifolius* and *E.uniflora*, inhibiting DPPH at a concentration of 0.17 mg/mL. In the cytotoxicity *P.cattleianum* was less harmful species, with 100% cell viability at the concentration of 2.84 mg/ml. These results enable the characterization of plant species and their biological properties and their cytotoxic effects, being of relevance in the development of new herbal medicines and for its use by the population.

Keywords: Medicinal plants. Antimicrobial activity. Natural antioxidants. Cytotoxicity.

## Lista de Figuras

Figura 1: Valores médios dos halos de inibição bacteriana na presença (T) ou ausência (C) do EHA de *Eucalyptus* sp frente aos seis antibióticos sobre *Staphylococcus* spp (S.a) ou *E.coli* (E.c). Para letras iguais, não há diferença significativa entre os tratamentos. ....60

Figura 2: Valores médios dos halos de inibição bacteriana na presença (T) ou ausência (C) do EHA de *E. uniflora* frente aos seis antibióticos sobre *Staphylococcus* spp (S.a) ou *E.coli* (E.c). Para letras iguais, não há diferença significativa entre os tratamentos. ....60

Figura 3: Valores médios dos halos de inibição bacteriana na presença (T) ou ausência (C) do EHA de *P.cattleiam* frente aos seis antibióticos sobre *Staphylococcus* spp (S.a) ou *E.coli* (E.c). Para letras iguais, não há diferença significativa entre os tratamentos. ....61

Figura 4: Valores médios dos halos de inibição bacteriana na presença (T) ou ausência (C) do EHA de *P.guajava* frente aos seis antibióticos sobre *Staphylococcus* spp (S.a) ou *E.coli* (E.c). Para letras iguais, não há diferença significativa entre os tratamentos. ....61

Figura 5:Valores médios dos halos de inibição bacteriana na presença (T) ou ausência (C) do EHA de *R.officinalis* frente aos seis antibióticos sobre *Staphylococcus* spp (S.a) ou *E.coli* (E.c). Para letras iguais, não há diferença significativa entre os tratamentos. ....62

Figura 6: Valores médios dos halos de inibição bacteriana na presença (T) ou ausência (C) do EHA de *S.molle* frente aos seis antibióticos sobre *Staphylococcus* spp (S.a) ou *E.coli* (E.c). Para letras iguais, não há diferença significativa entre os tratamentos. ....62



Figura 7:Valores médios dos halos de inibição bacteriana na presença (T) ou ausência (C) do EHA da folha da aroeira frente aos seis antibióticos sobre *Staphylococcus* spp (S.a) ou *E.coli* (E.c). Letras iguais, não há diferença significativa entre os tratamentos. ....63

Figura 8:Valores médios dos halos de inibição bacteriana na presença (T) ou ausência (C) do EHA do fruto da aroeira frente aos seis antibióticos sobre *Staphylococcus* spp (S.a) ou *E.coli* (E.c). Letras iguais, não há diferença significativa entre os tratamentos. ....63

Figura 9:Valores médios dos halos de inibição bacteriana na presença (T) ou ausência (C) do EHA de *S.cumini* frente aos seis antibióticos sobre *Staphylococcus* spp (S.a) ou *E.coli* (E.c). Para letras iguais, não há diferença significativa entre os tratamentos. ....64

Figura 10:Valores médios dos halos de inibição bacteriana na presença (T) ou ausência (C) do EHA de *T.minuta* frente aos seis antibióticos sobre *Staphylococcus* spp (S.a) ou *E.coli* (E.c). Para letras iguais, não há diferença significativa entre os tratamentos. ....64

Figura 11: Valores logarítmicos referentes a atividade antioxidante dos EHAs expressos na concentração em mg/mL necessária para a inibição em 50% do radical DPPH (mg/mL). ....65

Figura 12: Valores, em escala logarítmica, obtidos no teste de citotoxicidade expressos nas concentrações (mg/mL) referente aos EHAs que possibilitaram uma viabilidade celular  $\geq 90$ . ....68

## Lista de Tabelas

Tabela 1 - Descrição das espécies vegetais, da produção dos EHA e identificação das exsiccatas depositadas no Herbário Pel - UFPel. ....	41
Tabela 2: Variação das concentrações utilizadas no ensaio antibacteriano referente a cada espécie vegetal. Valores obtidos a partir da matéria seca de cada extrato. ...	44
Tabela 3: Teor de compostos fenólicos totais (mg GAE.100 mL <sup>-1</sup> ), taninos condensados (mg de catequina / 100 mL <sup>-1</sup> ), de carotenóides totais (mg de $\beta$ – caroteno / 100 mL ) e quantificação de matéria seca presentes em 100 mL de EHA. ....	48
Tabela 4: Concentrações dos fitoquímicos com relação ao teor de massa seca em 100 mL de EHA. ....	50
Tabela 5: Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos vegetais expressas em mg/mL frente a <i>Staphylococcus</i> spp e <i>E. coli</i> . ....	51

## Lista de Equações

Equação 1: Cálculo para quantificação de conteúdos de carotenóides totais.....42

Equação 2: Fórmula para o cálculo da atividade antioxidante, onde:  $A_b$  é a absorbância do branco e  $A_a$  é a absorbância da amostra. ....45

Equação 3: Fórmula para o cálculo de viabilidade celular, sendo  $A_t$  a absorbância dos tratados e  $A_c$  a absorbância dos controles.....46

## Lista de Abreviaturas e Siglas

µg	Micrograma
µL	Microlítro
ADE	Água Destilada Estéril
AMH	Ágar Müller Hinton
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATCC	American Type Culture Collection
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CF	Compostos Fenólicos
CFT	Compostos Fenólicos Totais
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CO <sub>2</sub>	Dióxido de Carbono
CT	Carotenóides Totais
DL	Dose Letal
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazila
EHA	Extrato Hidroalcoólico
ERO	Espécie Reativa de Oxigênio
FV	Faculdade de Veterinária
g/L	Gay-Lussac
GAE	Ácido Gálico
HCl	Ácido Clorídrico
Kg	Quilo
M	Molar
MDBK	Madin-Darby bovine kidney
MEM	Meio Essencial Mínimo
Mg	Miligrama
mL	Mililitro
Mm	Milímetro
N	Número de amostras
NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standards
Ng	Nanograma

Nm	Nanômetro
°C	Graus Celsius
OMS	Organização Mundial da Saúde
P	Intervalo de Confiança
Rpm	Rotação por Minuto
SINITOX	Sistema Nacional de Informações Tóxico Farmacológicas
Sp	Espécie
TC	Taninos Condensados
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UFPeI	Universidade Federal de Pelotas

## Sumário

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	OBJETIVO .....	18
2.1.	Geral.....	18
2.2.	Específicos .....	18
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	19
3.1.	Plantas medicinais.....	19
3.2.	Atividade antimicrobiana de plantas medicinais .....	20
3.3.	Atividade antioxidante de plantas medicinais .....	22
3.4.	Toxicidade de plantas medicinais .....	24
3.4.1.	Reações intrínsecas.....	25
3.4.2.	Reações extrínsecas.....	25
3.4.3.	Ensaio de citotoxicidade .....	25
3.5.	Drogas antimicrobianas .....	26
3.5.1.	Inibidores da síntese da parede celular .....	27
3.5.2.	Inibidores da síntese da membrana citoplasmática .....	28
3.5.3.	Inibidores da síntese proteica nos ribossomos.....	28
3.5.4.	Modificadores da síntese dos ácidos nucleicos.....	28
3.6.	Associação com extratos vegetais .....	29
3.6.1.	Interações físico-químicas .....	30
3.6.2.	Interações farmacocinéticas .....	31
3.6.3.	Interações farmacodinâmicas.....	31
3.7.	Fitoquímicos .....	31
3.8.	Plantas selecionadas .....	33
3.8.1.	<i>Eucalyptus</i> sp. Labill .....	33
3.8.2.	<i>Tagetes minuta</i> L.....	34
3.8.3.	<i>Eugenia uniflora</i> L.....	34
3.8.5.	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	36
3.8.6.	<i>Schinus molle</i> L.....	36
3.8.7.	<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi .....	37
3.8.8.	<i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeels.....	38
3.8.9.	<i>Psidium cattleianum</i> L.....	38
4	MATERIAL E MÉTODOS .....	40

4.1.	Plantas estudadas .....	40
4.2.	Produção dos extratos hidroalcoólicos .....	40
4.3.	Quantificação de matéria seca .....	41
4.4.	Micro-organismos .....	41
4.5.	Conteúdo total de compostos fenólicos .....	41
4.7.	Quantificação de taninos condensados .....	42
4.8.	Atividade antimicrobiana .....	43
4.9.	Interação entre EHAs e antibióticos .....	44
4.10.	Atividade antioxidante.....	45
4.11.	Citotoxicidade.....	45
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	47
5.1.	Quantificação de compostos fenólicos totais, taninos condensados, carotenóides totais e massa seca. ....	47
5.2.	Atividade antimicrobiana .....	50
5.3.	Interação entre extratos hidroalcoólicos e antibióticos.....	57
5.4.	Atividade antioxidante.....	64
5.5.	Citotoxicidade.....	67
6	CONCLUSÕES.....	71
7	REFERÊNCIAS .....	72

## **1 INTRODUÇÃO**

A utilização dos recursos naturais pela população humana é descrita desde os primórdios da humanidade, onde o homem conseguiu romper inúmeros obstáculos durante seu processo evolutivo, aprimorando esta prática e a elevando, até os dias de hoje, a nível mundial (DI STASI et al., 1996).

A limitação das terapias atualmente adotadas tem motivado a produção de novos fármacos no combate as mais diferentes enfermidades, impulsionando as pesquisas relacionadas com produtos naturais (FREITAS et al., 2002). Deste modo, os estudos envolvendo o uso de plantas medicinais em substituição aos produtos sintéticos convencionais visam minimizar seus efeitos ao homem, animais e ao meio ambiente.

O uso de plantas medicinais no tratamento de enfermidades é bastante comum, principalmente em populações de baixo poder aquisitivo, tanto na zona rural quanto na urbana, onde a tradição cultural e os problemas sócio-econômicos dificultam o acesso à medicina convencional (AGRA et al., 1996). Como alternativa a esta parcela da população, a administração de plantas com fins medicinais representa a única opção de tratamento. Tendo em vista a eficácia, o baixo custo exigido e a relativa facilidade para obtenção de plantas, o uso de fitoterápicos e plantas medicinais nos programas de atenção primária à saúde é uma alternativa terapêutica útil, além de se considerar a compatibilidade cultural deste programa com a população atendida (MATOS, 1994).

No Brasil, pesquisas que avaliem o grau de administração das plantas como medicamentos bem como a sua inserção na cultura popular são escassas (VEIGA JÚNIOR; PINTO; MACIEL, 2005). Desde 1977, a OMS tem incentivado o estudo das plantas conhecidas popularmente como medicinais com a finalidade de avaliar cientificamente seus benefícios e de conhecer os riscos relacionados ao seu uso (LOGUERCIO et al., 2005).



A flora brasileira há muitos anos desperta interesses econômicos e científicos devido a sua grande diversidade, a qual possibilita a obtenção de plantas de características tintoriais, odoríferas, estimulantes, condimentosas, alucinogênicas, resinosas balsâmicas, e ainda plantas utilizadas como instrumentos de caça e pesca (PACHÚ,1994).

A desinformação em torno das propriedades biológicas das plantas, seu consumo associado à medicação alopática, a falta de conhecimento quanto a sua toxicidade, além da dificuldade de identificação das mesmas pela população, são fatores preocupantes da automedicação por produtos naturais (ALBUQUERQUE & HANAZAKI, 2006; VEIGA JÚNIOR; PINTO; MACIEL, 2005). As observações e o saber popular sobre o uso e a eficiência da flora brasileira contribuem na divulgação da capacidade medicinal das plantas, mesmo que, parte destas, nestas condições, não possuam seus constituintes químicos estabelecidos. Ainda assim, usuários de plantas medicinais e fitoterápicos, permanecem com a prática do consumo destes produtos, tornando válidas as informações acumuladas durante séculos através de gerações (MACIEL et al., 2002).

As pesquisas etnobotânicas visam buscar os conhecimentos acumulados por meio do relacionamento de comunidades com o meio ambiente e pela difusão de informações influenciadas pelo uso tradicional/cultural difundido entre as diferentes gerações, que ao se considerar o fato das limitações do sistema de saúde pública e a condição socioeconômica de grande parte da população, justificam-se a sobrevivência deste conhecimento tradicional sobre as plantas medicinais (AGRA et al.,1994; MING; GAUDÊNCIO; SANTOS, 1997).

Ainda que evidenciada a atividade biológica dos fitoterápicos por comunidades, fazem-se necessários maiores estudos sobre a sua atividade tóxica e medicinal, para que deste modo, seja possível a elaboração e o desenvolvimento de novas drogas produzidas por meio dos produtos naturais, bem como, o seu consumo de forma segura pela população.

## **2 OBJETIVO**

### **2.1. Geral**

Avaliar a atividade biológica *in vitro*, efeitos citotóxicos e caracterizar quimicamente dez extratos vegetais produzidos com plantas coletadas no município de Pelotas, RS.

### **2.2. Específicos**

Avaliar a atividade antibacteriana de dez extratos vegetais, produzidos com nove plantas locais, frente a *Staphylococcus* spp e *Escherichia coli*;

Identificar a possível interação entre extratos vegetais e alguns antibióticos;

Verificar a atividade antioxidante desses dez extratos vegetais;

Avaliar os efeitos citotóxicos desses extratos;

Caracterizar os compostos fenólicos presentes nos dez extratos hidroalcoólicos.

### **3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1. Plantas medicinais**

O uso dos recursos naturais como alternativa terapêutica é uma das práticas mais remotas adotadas pelo homem, com aplicabilidade na alimentação, moradia, vestuário, utensílios culturais e religiosos, além de seu emprego em fins medicinais. Os relatos mais antigos da busca do homem pela cura através de recursos naturais datam de 3.000 a.C., na obra Pen Ts'ao do imperador chinês Shen Nung (KO, 1999; TYLER, 1996). Os primeiros registros relacionados a utilização das plantas medicinais com suas indicações e tratamentos são referidas por Hipócrates (460-377 a.C.) em sua obra "Corpus Hipocratium", com descrição da síntese dos conhecimentos médicos de seu tempo (MARTINS et al., 2000). Já em 78 d.C., Pedanios Dioscorides, um botânico de origem grega, descreveu no tratado *De Materia Medica* cerca de 600 plantas com propriedades medicinais, incluindo diversos produtos minerais e animais, permanecendo como base de referência por mais de quatorze séculos. Estes dados apontam o uso de plantas medicinais desde os inícios das civilizações, onde até o século XIX, eram consideradas a base medicamentosa da população (ROBBERS; SPEEDIE; TYLER, 1996; TYLER, 1996).

Devido a facilidade de obtenção, aliada a tradição de uso, são atualmente consideradas de grande contribuição dentro da medicina popular nos países em desenvolvimento, o que pode ser justificado pela falta de acesso aos medicamentos e as condições de pobreza dos usuários (VEIGA JÚNIOR; PINTO; MACIEL, 2005). Dados divulgados pela Organização Mundial de Saúde (OMS) demonstram que cerca de 80% da população em todo o mundo já recorreu a algum determinado recurso vegetal medicinal (MARTINS et al., 2000).

A diversidade vegetal no Brasil é considerada a mais rica do planeta, representada por cerca de 55 mil espécies, equivalendo a 22% do total mundial (CARVALHO et al., 2007). No entanto, das cerca de 250.000 espécies vegetais presentes no mundo, estima-se que 10% destas foram estudadas quanto as suas propriedades terapêuticas e suas aplicabilidades industriais (FERREIRA et al., 1998;

SIXEL, PECINALLI, 2002). Deste modo, as plantas medicinais e seus metabólitos têm sido alvo de inúmeros estudos visando a contribuição ao desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas e de sua inserção nos cuidados primários à saúde. Neste contexto, as pesquisas com plantas medicinais buscam gerar medicamentos alternativos em menor tempo, com custos menores e mais acessíveis a população (BRITO; BRITO, 1993).

Para Accorsi (2000), a população necessita de alternativas terapêuticas viáveis e a ciência deve buscar unir o progresso com os recursos oferecidos pela natureza, respeitando a cultura e a tradição popular em relação ao uso da diversidade vegetal frente à cura e prevenção dos males. Na medicina moderna, as plantas medicinais alcançaram grande relevância por possibilitarem a elaboração de fármacos que dificilmente seriam sintetizados quimicamente, por fornecerem compostos passíveis de modificações apresentando maior eficiência e menor toxicidade, por servirem de protótipos na obtenção de fármacos com atividades terapêuticas semelhantes a dos compostos originais, e por atuarem diretamente frente à atenção primária à saúde (ROBBERS; SPEEDIE; TYLER, 1996).

Segundo a OMS, planta medicinal é toda e qualquer planta, silvestre ou cultivada, que possui em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas como recurso para prevenir, curar, aliviar ou alterar um processo fisiológico normal ou patológico, podendo servir de precursores de fármacos semi-sintéticos (VEIGA JÚNIOR; PINTO; MACIEL, 2005). Já os fitoterápicos, são “produtos medicinais acabados e etiquetados, cujos ingredientes ativos são formados por partes aéreas ou subterrâneas de plantas, ou outro material vegetal, ou combinações destes, em estado bruto ou em formas de preparações vegetais” submetidos aos preceitos éticos enunciados pela OMS e aos requisitos estipulados pela legislação (RATES, 2001). O uso do termo “Plantas bioativas” é considerado relativamente novo, sendo sujeito a diferentes interpretações, entretanto, refere-se às plantas que possuam substâncias ou compostos que possam interferir ou alterar o funcionamento de outros seres vivos. Dentro deste conceito, enquadram-se como bioativas as plantas com características medicinais, aromáticas, condimentares, tóxicas, inseticidas, repelentes e de cunho místico religioso (SCHIEDECK, 2006).

Estima-se que cerca de 48% dos medicamentos comercializados em todo o mundo advêm, de forma direta ou indireta, de produtos naturais, especialmente das

plantas medicinais (BALUNAS; KINGHORN, 2005). O uso seguro, bem como a validação científica de plantas e fitoterápicos, dependem de uma análise sistemática quanto aos seus aspectos biológicos, químicos e farmacológicos (NIERO et al., 2003; ROJAS et al., 1992; UGAZ, 1994). Considerando a importância e o amplo alcance da medicina embasada no uso de plantas medicinais, a OMS, reconheceu a necessidade de garantir a eficácia, segurança e qualidade desta prática elaborando legislações e determinando registros de medicamentos à base de plantas medicinais, como forma de apoiar as investigações clínicas no que se refere ao uso das plantas e fitoterápicos no tratamento de problemas de saúde mais comuns (OMS, GINEBRA, 2002).

A OMS atua estimulando os países no processo de identificação e compreensão relacionadas aos aspectos da medicina tradicional, os quais fornecem informações a cerca de remédios ou práticas seguras e eficientes à sua utilização em cuidados primários à saúde (AKERELE, 1988). Atualmente, cerca de 400 produtos fitoterápicos estão registrados no Brasil, sendo elaborados a partir de 60 espécies medicinais, onde 10 são nativas (ANVISA, 2007).

De acordo com a legislação brasileira, Lei nº 5.991/73, as plantas medicinais, podem ser comercializadas em farmácias e ervanários, enquanto que seus subprodutos podem ser cadastrados à ANVISA como alimentos, cosméticos e medicamentos fitoterápicos. No entanto, as pesquisas no país, voltadas a realização da certificação e segurança do consumo de ervas medicinais ainda são incipientes, assim como, o controle por órgãos oficiais sobre a comercialização em estabelecimentos de produtos naturais, impulsionando maiores estudos sobre o papel das plantas medicinais na sociedade.

### **3.2. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais**

A busca por novos agentes com propriedades antimicrobianas deve-se ao surgimento de cepas multirresistentes que neutralizam os efeitos de muitos fármacos antimicrobianos sintéticos disponíveis no mercado. Assim como no Brasil, o estudo a cerca da atividade de extratos vegetais frente a micro-organismos é descrita em estudos realizados em diversos países que apresentam uma flora diversificada

(ABEDINI et al., 2013; CHOVANOVÁ; MIKULÁŠOVÁ; VAVERKOVÁ., 2013; KUETE et al., 2013; TORBATI et al., 2013).

Com relação às plantas com fins antibacterianos, as diferenças das técnicas adotadas na averiguação da atividade de compostos oriundos de espécies vegetais, bem como, as variações encontradas na constituição química de alguns extratos vegetais podem resultar em dados de difícil comparação entre as pesquisas. Cabe salientar, que ainda não existe um consenso sobre os níveis de inibição aceitáveis para compostos de plantas, quando comparados com antibióticos padrões (DUARTE, 2006).

Muitos são os métodos utilizados para a avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. Através destas análises pode-se determinar as propriedades antimicrobianas por meio de uma pequena quantidade do extrato vegetal que é necessário para inibir o crescimento do micro-organismo-teste, este valor é conhecido como Concentração Inibitória Mínima (CIM), podendo-se determinar da mesma forma, a Concentração Bactericida Mínima (CBM) a qual é definida pela concentração necessária para inativar o micro-organismo alvo. Os métodos mais conhecidos incluem os de Difusão em Ágar, Diluição em Caldo e Método de Macrodiluição em Caldo e em Ágar (OSTROSKY et al., 2008).

O método de macrodiluição, que dissolve a amostra a ser testada em um meio sólido ou líquido conveniente, ainda que exija um trabalho excessivo, maior consumo de material e possível solubilidade quando usado sistemas aquosos, possui a vantagem de ser quantitativa (FREIBURGHHAUS et al., 1996).

Para se obter um resultado confiável e com validação científica, é de relevância possuir um controle da atmosfera em que estes métodos estão sendo aplicados. Inúmeros fatores podem influenciar em um experimento microbiológico, como o meio de cultura escolhido, pH, disponibilidade de oxigênio, condições de incubação, além do preparo do inóculo (OSTROSKY et al., 2008).

Na determinação da CIM e da CBM de extratos vegetais é importante que se considere a relação da mesma com os aspectos toxicológicos pertinentes aos compostos naturais ou suas combinações (PINTO; KANEKO; OHARA, 2003).

### 3.3. Atividade antioxidante de plantas medicinais

Carotenóides, antocianinas, flavonóides, taninos e demais constituintes fenólicos, são potenciais agentes antioxidantes encontrados em alimentos de origem vegetal (OOMAH; CARDADOR-MARTINEZ; LOARCA-PINÃ 2005; SALAH et al, 1995). Compostos antioxidantes são definidos como qualquer substância, em concentrações baixas em comparação com as de um substrato oxidável, que atuam proporcionando um atraso significativo ou evitando a oxidação do referido substrato (MCCORD, 2000). Em organismos vivos, a função destes agentes é de impedir o dano celular e tecidual a partir da neutralização de radicais livres, sendo o butil-hidroxi-tolueno (BHT), butil-hidroxi-anisol (BHA) e o ácido cítrico os agentes antioxidantes sintéticos mais conhecidos e utilizados pelas indústrias (ALI et al., 2008; POLOVKA; BREZOVÁ; STASKO; 2003).

Atualmente, as indústrias farmacêuticas e alimentícias disponibilizam antioxidantes de origem sintética além dos naturais em seus produtos. Embora os antioxidantes sintéticos sejam conhecidos por sua qualidade homogênea sua utilização é restrita em diversos países por apresentarem efeitos indesejáveis a saúde humana estimulando o interesse na obtenção e utilização de novos antioxidantes naturais (HRAS et al. 2000).

Em geral, radicais livres são compostos com estrutura química com um ou mais elétrons desemparelhados, conferindo-lhes instabilidade e sendo altamente reativos. Para tornarem-se estáveis, estas moléculas necessitam capturar elétrons, reagindo com compostos vizinhos e os oxidando (SANCHEZ-MORENO, 2002). Entre as várias espécies de radicais livres encontram-se os metais de transição. No entanto, os principais são gerados por reações metabólicas do organismo conhecidas como Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) (SALVADOR; HENRIQUES, 2004).

Durante o processo de oxidação, um determinado composto perde um elétron alterando suas propriedades iniciais e perdendo sua funcionalidade. Todos os componentes celulares de nosso organismo estão suscetíveis à ação das ERO. A produção constante e em excesso das ERO está associada com o surgimento de doenças como isquemia, inflamação, trauma, doenças degenerativas e morte celular por ruptura da membrana (lipoperoxidação) e inativação enzimática (KOURY;

DONÂNGELO, 2003). Nos organismos vivos, as ERO podem induzir alterações celulares e teciduais irreversíveis, enquanto que em alimentos observa-se perda das características organolépticas (FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

Sistemas endógenos de proteção aos efeitos oxidativos como superóxido desmutase, catalase, peroxidase e metaloproteínas, podem ter seu efeito aprimorado com a inserção de agentes antioxidantes na dieta, uma vez que, em condições como envelhecimento, os antioxidantes endógenos produzidos naturalmente no organismo esgotam-se, sendo necessária uma reposição exógena (AQIL et al, 2012; BRENNAN; PAGLIARINI, 2001). Em geral, nosso sistema de defesa antioxidante atua como antioxidante de prevenção, impedindo a formação dos radicais livres; como varredores, impedindo o ataque destes radicais às células; e de reparo, ao favorecer a remoção de danos da molécula de DNA e a reconstituição das membranas celulares danificadas (KOURY; DONÂNGELO, 2003).

Os antioxidantes podem ser divididos em dois grupos: aqueles que apresentam atividade enzimática, bloqueando o início da oxidação com remoção de espécies reativas ao oxigênio por meio de enzimas, e aqueles que não apresentam atividade enzimática, neste caso, encontram-se moléculas capazes de interagir com radicais durante a reação, como é o caso dos carotenóides, vitaminas e compostos fenólicos (MOREIRA; MANCINI-FILHO, 2004).

Os compostos fenólicos são facilmente encontrados em vegetais com diferentes aplicabilidades, como na defesa contra o estresse oxidativo ocasionados pelas ERO, atuando como agentes antioxidantes (MELLO; SANTOS, 2001). Alimentos ricos em antioxidantes desempenham um papel essencial na prevenção de alguns tipos de câncer, doenças cardiovasculares, aterosclerose, diabetes, artrite e Alzheimer. Desde modo, cresce a busca por novos compostos naturais que auxiliem na manutenção celular e inibam a formação de patologias ligadas ao estresse oxidativo (BRENNAN; PAGLIARINI, 2001; CUI et al., 2004).

O potencial antioxidante dos extratos vegetais, em geral, são determinados com base na avaliação da atividade seqüestrante de radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazila (DPPH). O DPPH é um conhecido radical livre estável que interage com substâncias de caráter antioxidantes, as quais transferem elétrons ou átomos de hidrogênio ao DPPH, neutralizando o radical livre. Quando o processo antioxidante ocorre, a coloração da reação muda do violeta ao amarelo e a



absorvância torna-se reduzida a 517 nm (BANERJEE; DASGUPTA; DE, 2005). Os resultados são expressos em IC<sub>50</sub>, ou seja, na quantidade de amostra necessária para eliminar 50% do radical DPPH (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995; ILHA et al., 2008).

### **3.4. Toxicidade de plantas medicinais**

A falta de regulamentação, de controle na comercialização de plantas e fitoterápicos, a facilidade de acesso e as adulterações destes produtos, além das características específicas dos usuários, constituem fatores de risco à ocorrência de reações adversas e outros problemas relacionados ao seu uso (KO, 1998; DE SMET, 2004). O pensamento errôneo de grande parte da população de que o uso das plantas medicinais não proporciona prejuízos a saúde humana e animal, eleva o número de indivíduos intoxicados. Esse fato advém da bagagem cultural da população quanto ao seu tradicional. Assim, a característica “natural” de tais produtos não é certificação da isenção de reações adversa e outros danos decorrentes desta prática (LANINI et al., 2009).

Com o pensamento, de que “o natural não faz mal”, o uso irracional pela população no tratamento de diversas enfermidades, por meio dos produtos vegetais, têm-se ampliado e com ele os casos de intoxicações. Como todo produto estranho ao organismo, o resultado da sua biotransformação pode gerar produtos potencialmente tóxicos, com danos expressivos, seja a curto ou a longo prazo (DI STASI et al., 1996; LAPA et al., 2004; MENGUE; MENTZ; SCHENKEL, 2001).

A ocorrência natural nos vegetais de compostos como alcalóides pirrolizidínicos, ácido aristolóquico, ésteres de forbol, a ocorrência de contaminação por microorganismos, metais pesados, aflatoxinas além da identificação vegetal incorreta são alguns dos fatores responsáveis por casos de toxicidade relacionada com o uso de plantas medicinais (FARNSWORTH, 1993).

Inicialmente, há duas formas de se identificar os efeitos adversos e correlacioná-los ao uso de plantas medicinais: reações intrínsecas e reações extrínsecas (CALIXTO, 2000).

#### **3.4.1. Reações intrínsecas**

Relacionadas a um consumo excessivo, super dosagens e interações com outros medicamentos, sendo inerente a constituição química da planta.

#### **3.4.2. Reações extrínsecas**

Relacionadas ao processamento da planta. Ocasionado por problemas de manufatura, descuido com a padronização, contaminação, adulteração, dosagem incorreta, identificação botânica incorreta, etc. Fatores como temperatura, luminosidade, fase fenológica, método de coleta e de armazenamento, disponibilidade de água e nutrientes, transporte e embalagem, podem comprometer a qualidade e o valor terapêutico atribuído à espécie vegetal.

No Brasil, no ano de 2010, registrou-se 1.377 casos de intoxicações humanas por plantas medicinais, representando 1,33% em relação aos demais possíveis agentes tóxicos, sendo o uso indevido o maior responsável pelos números de casos identificáveis. Desta totalidade, a região Sul é a segunda do país com maior índice das intoxicações, com 330 casos, e Porto Alegre a cidade com a maior representatividade, com 300 casos registrados (90,9%), confirmando o desconhecimento e falta de informação da população a cerca dos riscos em torno destes produtos (SINITOX, 2010).

Os elevados índices de intoxicações por plantas e fitoterápicos pode ser justificado pelo aumento desta prática, pela influência veiculada em meios de comunicação, amplo e livre comércio fitoterápico, pela fraca atuação da vigilância sanitária, bem como, a crença da inocuidade e isenção de efeitos indesejáveis (GALLO et al., 2000; SIMÕES et al., 1998; SILVA; RITTER, 2002).

#### **3.4.3. Ensaios de citotoxicidade**

A desinformação e o uso indiscriminado de plantas medicinais podem gerar efeitos tóxicos que comprometem a saúde dos usuários. Devido ao controle cada vez maior e rigoroso em relação a experimentação com modelos biológicos, a necessidade de desenvolver e padronizar testes *in vitro* que detectem os mais

diversos níveis de toxicidade de diferentes produtos para uso em seres humanos e animais é grande. Os métodos de análise citotóxica *in vitro* apresentam vantagens em relação aos *in vivo* tais como a limitação do número de variáveis experimentais e a obtenção de dados significativos de forma mais fácil e rápida (ROGERO et al., 2003).

Assim, os ensaios de citotoxicidade *in vitro* tornam-se necessários na definição da toxicidade de extratos vegetais em cultivo celular, indicando a habilidade intrínseca desses compostos em ocasionar morte celular como consequência aos danos gerados às funções celulares. Para isso, diferentes parâmetros visando a identificação da proliferação e da morte celular podem ser empregados nos ensaios, avaliando-se colorimetria e absorbância por meio da incorporação de determinadas substâncias no cultivo (WEYERMANN; LOCHMANN; ZIMMER, 2005).

Em geral, o parâmetro mais utilizado na avaliação de toxicidade é a viabilidade celular, a qual pode ser observada por meio de corantes vitais como o vermelho neutro, uma substância solúvel em água e que atravessa a membrana celular, concentrando-se nos lisossomos, onde se fixa por meio de ligações eletrostáticas hidrofóbicas em sítios aniônicos na matriz lisossomal. Apenas os lisossomos de células viáveis retêm o corante catiônico enquanto que nas células onde a integridade da membrana dos lisossomos foi comprometida pela exposição ao químico não haverá retenção do corante (SVENDSEN et al., 2004). Deste modo, pode-se distinguir a presença de células viáveis das danificadas ou mortas por meio da intensidade de cor da cultura celular (CIAPETTI et al., 1996).

Neste tipo de ensaio, considera-se como concentrações não tóxicas aquelas que permitem uma viabilidade celular maior que 90 % quando comparada com o controle de células sem o tratamento (FERNANDES et al., 2013).

### **3.5. Drogas antimicrobianas**

Antibióticos são compostos, naturais ou sintéticos, que possuem a capacidade de inibir o crescimento ou ocasionar morte bacteriana, sendo classificados como bacteriostáticos ou bactericidas, respectivamente (WALSH, 2003).

O desempenho dos antibióticos depende da eficiência de sua concentração em quadros infecciosos. As mais diversas classes de antimicrobianos apresentam diferentes funções, podendo atuar como bacteriostáticos, quando há inibição bacteriana e permanência dos organismos na fase estacionária de desenvolvimento, ou bactericida, quando há destruição de uma população bacteriana por alterações em processos vitais induzindo a célula bacteriana à morte (BRUNTON, 2008; KATZUNG, 2007; LAGO, 2011; PANKEY; SABATH, 2013).

Suas diferenças consistem em propriedades físico-químicas, farmacológicas, espectro e mecanismos de ação (BRODY; LARNER; MINMEMAN, 1998; BRUNTON, 2008; TENOVER, 2006; KATZUNG, 2007).

De acordo com seu modo de ação podem ser divididos em: inibidores da síntese da parede celular, inibidores da síntese da membrana citoplasmática, inibidores da síntese protéica nos ribossomas e modificadores da síntese dos ácidos nucléicos.

### **3.5.1. Inibidores da síntese da parede celular**

Atuam à nível da síntese do peptidoglicano. Dividem-se em três grandes grupos:  $\beta$ -lactâmicos, bacitracina e glicopeptídeos. Os  $\beta$ -lactâmicos compreendem um grande grupo onde se encontram as Penicilinas (penicilina G e V, amoxicilina, ampicilina, as Ureidopenicilina e penicilinas antipseudomonas). Possuem um amplo espectro de ação inibindo bactérias Gram negativas e Gram positivas (BRUNTON, 2008). São conhecidos por sua segurança e eficácia, pelo fato de atuarem sobre a transpeptidase, enzima presente somente na célula bacteriana, a qual participa na formação do peptidoglicano (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010).

Os Glicopeptídeos dividem-se em Vancomicina e Teicoplanina, e assim como a Bacitracina atuam frente a Gram positivas. O desenvolvimento de resistência de bactérias frente aos glicopeptídeos é lento, no entanto, a presença de linhagens resistentes são descritas desde 1996 (PATRICK, 2005).

### **3.5.2. Inibidores da síntese da membrana citoplasmática**

Dividem-se em Polimixinas C e E (Colistina). Atuam frente às bactérias Gram negativas, havendo modificação imediata da permeabilidade da membrana quando em contato com o fármaco e a consequente entrada de água na célula ocasionando destruição bacteriana. A este grupo, atribui-se também, a capacidade de inativar as endotoxinas bacterianas (BRODY; LARNER; MINMEMAN, 1998; BRUNTON, 2008; NEU; GOOTZ, 1996; KATZUNG, 2007).

### **3.5.3. Inibidores da síntese proteica nos ribossomas**

Possuem um amplo espectro de ação, agindo em Gram positivas e negativas. Exemplos de antibióticos que inibem a síntese protéica nos ribossomas são: os Aminoglicosídeos (gentamicina), Tetraciclina, Anfencóis, Macrólitos, Lincosamida e Oxazolinidonas. No ribossoma bacteriano, constituídos por duas subunidades, 30s e 50s, ocorre a ligação destas drogas antimicrobianas de modo a inibir ou alterar a síntese protéica (BRUNTON, 2008; KATZUNG, 2007).

Os aminoglicosídeos, de efeito bactericida, atuam em Gram negativas aeróbias a partir da inibição da subunidade 30s, interrompendo a síntese protéica. O uso contínuo de aminoglicosídeos está associado a efeitos ototóxicos e nefrotóxicos (WALSH, 2003).

As Tetraciclina possuem um espectro maior com efeito em Gram positivas e negativas, anaeróbias ou aeróbias. As demais classes de antibióticos agem frente a subunidade 50s bacteriana atuando em Gram positivas e negativas, enquanto que as oxazolinidonas inibem a síntese protéica por ligação ao local 23s da subunidade 50s, impedindo o início desse processo (BRODY; LARNER; MINMEMAN, 1998; BRUNTON, 2008; KATZUNG, 2007; WALSH, 2003).

### **3.5.4. Modificadores da síntese dos ácidos nucléicos**

Dividem-se em Fluoroquinolonas e Rifampicina. As quinolonas são antigos antibióticos de utilidade terapêutica limitada e de rápida aquisição de resistência bacteriana, por essa razão o desenvolvimento das Fluoroquinolonas representam

um avanço terapêutico devido a sua ampla atividade antimicrobiana e eficiência, apresentando reduzidos efeitos secundários e um lento processo de desenvolvimento de resistência. Possui ação frente a bactérias Gram negativa sendo usada com restrição devido a rápida aquisição de resistência a este antibiótico. A Rifampicina é um fármaco semi-sintético com atuação a uma grande variedade de micro-organismos. Atua inibindo a RNA polimerase impedindo o processo de transcrição. Ainda, são conhecidos fármacos que alteram o metabolismo celular, como a Sulfonamida. De espectro frente às Gram positivas e Gram negativas, é considerada um dos primeiros antibióticos utilizados em casos infecciosos. Atua sensibilizando todos os micro-organismos sintetizadores de ácido fólico (BRODY; LARNER; MINMEMAN, 1998; BRUNTON, 2008; KATZUNG, 2007; NEU; GOOTZ, 1996; PATRICK, 2005).

### **3.6. Associação com extratos vegetais**

Na tentativa de aprimorar e intensificar a ação proporcionada pela medicação sintética, o uso associado de plantas e drogas comerciais tem sido observada e descrita em muitos estudos com a finalidade de complementar uma terapia em andamento, no entanto, muitas vezes esta informação não é discutida nem relatada a um profissional da saúde devido a sua aparente característica inócua, podendo haver comprometimento do tratamento inicialmente proposto (ALEXANDRE; BAGATINI; SIMÕES, 2008; LIMA et al., 2012; MARLIÉRE et al., 2008).

Mesmo com os avanços tecnológicos e com o aumento de estudos em torno das características químicas e farmacológicas de plantas medicinais, parte destas ainda não foram completamente caracterizadas quanto aos seus constituintes ativos e seus potenciais efeitos tóxicos, os quais podem manifestar-se pela associação com medicamentos alopáticos, dentre eles os antibióticos (ABEBE, 2002; AMORIM, 1999; FUGH-BERMAN; ERNST, 2001).

A constante observação da resistência microbiana às drogas convencionais tem impulsionado a busca de novos produtos que possuam atividade inibitória frente aos patógenos resistentes. Interações medicamentosas podem ser compreendidas como um tipo especial de resposta farmacológica onde os efeitos de um ou mais fármacos são alterados devido a administração simultânea ou anterior de outros

medicamentos (GRAHAME-SMITH; ARONSON; 1988; FONSECA, 1994; HANSTEN; HORN, 1996; OGA, 1994). Os efeitos gerados pelas interações medicamentosas podem potencializar o efeito terapêutico de fármacos, reduzir a eficiência dos mesmos e do surgimento de reações adversas com diferentes níveis de gravidade, ou ainda, não alterar o efeito desejado do medicamento (OGA, 1994; THOMPSON, 1979). Desta forma, as interações medicamentosas são capazes de influenciar no resultado de um processo terapêutico, sendo a possibilidade desta ocorrência proporcional ao número de medicamentos administrados (SECOLI, 2001).

Assim, interações entre extratos vegetais e medicamentos podem resultar não apenas em efeitos indesejados, mas também, efeitos benéficos que não seriam obtidos com uso individual dos produtos, como a redução de efeitos adversos e secundários, o atraso do surgimento de micro-organismos multirresistentes, além de possibilitar a redução da dose medicamentosa (SEHN et al., 2003).

Efeitos sinérgicos resultantes de interações com antimicrobianos já foram observados em plantas das espécies *Psidium guajava*, *Syzygium aromaticum* (BETONI et al, 2006); *Rosmarinus officinalis* (ZAGO et al, 2009); *Eucalyptus citriodora* (OLIVEIRA et al, 2005), *Cymbopogon citratus* e *Allium sativum* (USHIMARU et al, 2012).

De acordo com Fugh-Berman (2001); Secoli (2001); Oga; Basile; Carvalho (2002) e Bachmann et al., (2006), as interações medicamentosas, em sua totalidade, podem ser classificadas em:

### **3.6.1. Interações físico-químicas**

Diminuem ou inativam a atividade de um ou mais fármacos; aumentam a toxicidade de um ou mais fármacos; podem dar origem a novos compostos com características, tóxicas, inócuas ou ativas. Este tipo de interação, também é chamada de interação farmacêutica ou incompatibilidade medicamentosa.

### **3.6.2. Interações farmacocinéticas**

Quando um fármaco altera os parâmetros relacionados aos processos de absorção, disposição, biotransformação e excreção de outro fármaco no organismo, podendo resultar em efeitos farmacológicos ampliados ou reduzidos.

### **3.6.3. Interações farmacodinâmicas**

Ampliam ou reduzem o efeito esperado do medicamento devido a uma ação sinérgica ou antagônica, respectivamente, o que ocorre pela alteração entre um medicamento e seu sítio de ligação em razão de outro fármaco. Nos casos sinérgicos, obtêm-se uma resposta farmacológica onde o resultado da associação é maior do que os efeitos apresentados pelo fármaco de forma isolada. Pode ocorrer com medicamentos que apresentem os mesmos mecanismos de ação (aditivo); que atuam por vias distintas (somação) ou em diferentes receptores farmacológicos (potencialização) (FONSECA, 1994; OGA, 1994; SKIDMORE-ROTH, 1997). No entanto, quando se visualiza a redução ou supressão da resposta de um fármaco devido a presença de outro, verifica-se um efeito antagônico, o qual, muitas vezes é decorrente da competição destes pelo mesmo sítio receptor (SECOLI, 2001).

## **3.7. Fitoquímicos**

Dentre os recursos disponíveis, as plantas medicinais tem se destacado e sido amplamente estudadas devido as suas inúmeras propriedades biológicas, as quais são atribuídas aos seus compostos ativos sintetizados em seu metabolismo secundário, como por exemplo, os compostos fenólicos (JANSEN; CHEFFER; SVENDSEN, 1987).

Os compostos oriundos do metabolismo secundários vegetal estão relacionados com fatores de manutenção e de desenvolvimento propiciando a adequação das plantas ao ambiente. Este fenômeno envolve defesa contra patógenos e herbivoria, atração de polinizadores, proteção a temperaturas extremas e estresse hídrico ou deficiência de nutrientes e minerais do solo (FUMAGALI et al., 2008). Compostos fenólicos caracterizam-se por apresentarem vários grupos



benzênicos, tendo como substituintes grupamentos hidroxilas (HERNÁNDEZ; PRIETO GONZÁLES, 1999). Estão amplamente distribuídos na natureza, podendo ser encontrados na constituição de vegetais, frutas e produtos industrializados. Podem apresentar-se na forma de pigmentos, colorindo os alimentos, ou como produtos do metabolismo secundário de vegetais (SILVA et al., 2010).

Aos compostos fenólicos atribui-se atividades antioxidante, antimicrobiana, antiinflamatória e vasodilatadora (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKY, 2004; MELLO; GUERRA, 2002) e podem ser divididos em dois grandes grupos, os flavonóides (flavanóis, os flavonóis, as flavanonas, as flavonas e antocianinas) e os não flavonóides (ácidos benzóicos, ácidos cinâmicos, estilbenos e isoflavonas) (ANGELO; JORGE, 2007; KING; YOUNG, 1999; SIRIWOHARN et al., 2004).

Dentre os compostos fenólicos, encontram-se os taninos, estes são classificados como hidrolisáveis e condensados (proantocianidinas), apresentando estrutura química distinta entre si. Dentre os taninos hidrolisáveis, encontram-se os galitaninos e os elagitaninos, derivados dos ácidos gálicos e elágico. São encontrados em concentrações elevadas em madeiras, cascas de árvores, folhas e galhos (BOBBIO; BOBBIO, 1989; FENNEMA, 1993; MELLO; GUERRA, 2002; MUELLER-HARVEY, 2001). Já os taninos condensados, são considerados de maior importância e distribuição em alimentos. Conferem uma coloração avermelhada ou amarronzada, onde em pequenas quantidades conferem características sensoriais desejáveis, no entanto, em concentrações mais elevadas proporcionam uma sensação de adstringência (BOBBIO; BOBBIO, 1989). Estudos em torno das propriedades biológicas dos taninos sugerem uma ação antimicrobiana, anticarcinogênica, antiinflamatória, cicatrizante e inibidora da transcriptase reversa em HIV (SCALBERT, 1991; CHUNG; WEI; JOHNSON, 1998; KILKUSKIE et al., 1992; MELLO; SANTOS, 2001).

Os carotenóides possuem ampla distribuição na natureza, sendo compostos que conferem a pigmentação amarela, laranja e vermelha a frutas, folhas e flores. São conhecidos precursores da vitamina A e do licopeno (BOBBIO; BOBBIO, 1992). A identificação de carotenóides em vegetais têm sido amplamente estudada pela sua capacidade de atuar como substâncias bioativas, promovendo efeitos benéficos à saúde humana. Dentre as propriedades biológicas envolvendo os carotenóides relatam-se os seus efeitos antioxidantes, modulação do metabolismo carcinógeno,

aumento da resposta imune, inibição da proliferação celular, incremento da diferenciação celular, estímulo da comunicação célula-célula e filtração de luz azul (HANDELMAN, 2001; OLSON, 1999; PALOZZA; KRINSKY, 1992; STAHL; ALEAGHA; POLIDORI, 2002).

### **3.8. Plantas selecionadas**

Muitos estudos envolvendo a fitoterapia originam-se por meio de resgate de informações retidas a partir da medicina popular empírica, com posterior comprovação científica e recomendação de seu uso de forma segura e eficiente à população. Para Gonçalves et al. (2013) é importante que se considere a distribuição e a facilidade de acesso das espécies estudadas priorizando o conhecimento popular referente a flora local de cada região.

#### **3.8.1. *Eucalyptus* sp. Labill**

Conhecido popularmente como árvore-da-febre, comeiro-azul, eucalipto, gomeiro-azul, mogno-branco, eucalipto-limão. O gênero *Eucalyptus* pertence a família Myrtaceae, sendo originário da Austrália e Tasmânia, com introdução no Brasil no final do século XX. Caracterizam-se como arbustos ou árvores de grande porte, com cerca de 600 espécies descritas (LORENZI; MATOS, 2002). Diversas subespécies e híbridos naturais, decorrentes da proximidade do cultivo entre diferentes espécies são conhecidas, sendo a hibridização um obstáculo à identificação das espécies dentro do gênero (GONZALÉZ, 2002).

Suas folhas são coriáceas e opostas, podendo ser encontrados dois tipos morfológicos. Os botões florais são solitários gerados pelo crescimento conjunto de pétalas e sépalas formando frutos operculados. Seus ramos jovens são largos e peltados e quando maduros são mais largas, lanceolados ou em formato de foice (MATOS et al., 2004). Na medicina popular o chá das folhas são empregadas na inalação no tratamento da gripe, congestão nasal e sinusite (LORENZI; MATOS, 2002). A fricção da planta, ou a compressa, costumam ser usadas em nevralgias nas costas e em articulações (FRANCO; FONTANA, 2004).

Demais propriedades são atribuídas a *Eucalyptus* sp., tais como atividade inseticida (MARCOMINI et al, 2009); efeito antiviral (ELAISSI et al., 2012); antiparasitário (BAWM et al., 2010); imunoregulador (SERAFINO et al., 2008), além de efeitos analgésico e anti-inflamatórios (SILVA et al, 2003).

### **3.8.2. *Tagetes minuta* L**

É originária do México, estando distribuída por toda América do Sul, com exceção dos Andes, sendo popularmente denominada como chinchilho, vara-de-rojão, rabo-de-foguete, cravo-de-defunto, cravo-de-urubu, coari, coari-bravo e estrondo (KISSMANN; GROTH, 1992).

Pertence a família Asteraceae. Caracteriza-se como um subarbusto anual e ereto, pouco ramificado e de intenso odor. As folhas são compostas imparipinadas, apresentando entre 3 à 9 folíolos glandulosos. As flores são dispostas em capítulos amarelados, reunidos em panículas axilares e terminais. Pode atingir cerca de 2 metros de altura. A multiplicação ocorre apenas por sementes. Encontrado em áreas abertas e sob distúrbio da América do Sul (LORENZI, 2000).

Planta aromática, excitante e diurética, pelo conhecimento popular, sua parte aérea é indicada frente ao reumatismo, problemas intestinais, dispepsia, antiparasitário e como estimulante menstrual. O chá dos frutos e das folhas é utilizado no tratamento de bronquites, tosses, resfriados e secreção pulmonar. O uso externo, utilizando-se compressas com água quente feita com flores e folhas secas e moída, é recomendado frente ao reumatismo, nevralgias, gota, dores lombares e inflamações articulares (LORENZI; MATOS, 2002).

A comunidade científica já elucidou outras propriedades de *T. minuta*, entre elas: atividade antiparasitária (ANDREOTTI et al, 2013), inseticida (LÓPEZ et al, 2011), antiviral (GHAEMI et al, 2004) e antitumoral (ICKES et al., 1973).

### **3.8.3. *Eugenia uniflora* L.**

*E. uniflora* pertence a família Myrtaceae, sendo conhecida como pitanga, pitanga-branca, pitanga-do-mato, pitanga-rósea, pitanga-roxa, pitanga-vermelha,

ibipitanga, ubipitanga, pitangueira, ginja e jinja. É nativa do Brasil, distribuindo-se desde o Planalto Meridional até as restingas litorâneas do Nordeste ao Sul do país (LORENZI; MATOS, 2002).

É um arbusto denso de altura entre 2 à 4 metros. Planta ramificada de copa arredondada apresenta folhagens persistentes ou semidecídua. Suas folhas são simples e opostas, o pecíolo é curto, possui limbo oval, ápice acuminado e base arredondada com consistência membranácea. Esta espécie apresenta uma raiz pivotante com inúmeras raízes secundárias e terciárias. As flores são hermafroditas, corola com quatro pétalas, numerosos estames, enquanto que o fruto é uma baga globosa com sete a dez sulcos (CORADIN, SIMINSKI; REIS, 2011).

Na medicina popular é conhecida por diminuir a pressão arterial, combater azia, bronquite, cólica e doenças do estômago, o chá das folhas é anti-reumático, antidisentérico, febrífugo e utilizado contra diabetes (KORBES, 1995). Rica em compostos fenólicos, como taninos e flavonóides (EINBOND et al., 2004), seus efeitos antiparasitários (RODRIGUES et al, 2013), antinociceptivo e hipotérmico (AMORIM et al, 2009) e a sua ação anti-hipertensiva (CONSOLINI; BALDINI; AMAT, 1999) já foram descritos na literatura.

#### **3.8.4. *Psidium guajava* L.**

Planta nativa da região tropical do continente americano, distribuindo-se por todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo (MEDINA, 1988). É conhecida como goiaba, goiaba-branca, goiaba-comum, goiaba-maçã, goiaba-pera, goiaba-vermelha, goiabeira, goiabeira-branca, guaiaba, guaiava, guava, araçá-das-almas, araçá-goiaba, araçá-guaçu, araçá-guaiaba, aracu-guaçu e aracu-uaçu (LORENZI; MATOS, 2002).

Pertence a família Myrtaceae, com altura variando de 3 à 5 metros, folhas adultas de pecíolo arredondado, coloração amarela esverdeada de formato oval, oblonga ou elíptica. Os brotos apresentam gemas floríferas e vegetativas enquanto que as flores são brancas e os frutos uma baga de forma variável (LORENZI, 2002; MANICA, 2000).

Seu uso na medicina popular é conhecido frente as dores de cólicas, colite, diarreia, disenteria e dor de barriga (TÔRRES et al., 2005; VENDRUSCOLO; RATES; MENTZ, 2005).

Estudos realizados sustentam a atividade da espécie frente a diabetes melitus (EIDENBERGER; SELG; KRENNHUBER, 2013), ação anti-inflamatória (SIANI et al., 2013), antiviral (FARAL-TELLO et al, 2012) e anticancerígena (RYU et al, 2012).

### **3.8.5. *Rosmarinus officinalis* L.**

Conhecido por alecrim, alecrim-comum, alecrim-de-casa, alecrim-de-cheiro, alecrim-de-horta, alecrim-de-jardim, alecrim-rosmarinho, erva-coada, erva-da-graça, flor-de-olimpio, rosa-marinha, rosmarinho, rosmarino. Compreende a família Lamiaceae, cultivada em inúmeros países de clima temperado de Portugal à Austrália, sendo nativa da região Mediterrânea (LORENZI; MATOS, 2002).

Planta arbustiva aromática, de coloração verde intensa, pode alcançar 2 metros de altura. Apresenta folhas lineares e estreitas, verde-escura na parte superior e esbranquiçadas na inferior e suas inflorescências são densas e de coloração violeta (GONZÁLEZ-TRUJANO et al., 2007). Dentro da medicina popular é utilizada em tratamentos de distúrbios menstruais, como sedativa, antiespasmódica e cardiotônica, tosse, gripe, cólica, febre, dor, flatulência, problemas estomacais, intestinais e hepáticos, além de ser usada como tratamento alternativo para asma brônquica (ALBUQUERQUE et al., 2007).

Esta espécie já apresentou ação analgésica e anti-inflamatória (LUCARINI et al., 2013), efeito larvicida (YU et al., 2013) e anticancerígena (WANG et al., 2012) comprovadas.

### **3.8.6. *Schinus molle* L.**

*S. molle* é um planta da família Anacardiaceae nativa do Sul do Brasil. É conhecida por seus diversos nomes populares: anacauíta, araguaraíba, aroeira, aroeira-da-praia, aroeira-folha-de-salmo, aroeira-mansa, aroeira-mole, aroeira-periquita, aroeira-salsa, aroeira-salmo, aroeira-vermelha, bálsamo, cambu, corneíba, corneita, fruto-de-sabiá, pimenteira, terebinto. É uma árvore semidecídua de 5 à 8

metros de altura, de copa globosa com ramos e folhas pêndula e aromáticas, tronco cilíndrico, flores pequenas e amarelas, dispostas em inflorescências paniculadas pendentes e frutos marrons e esféricos (LORENZI; MATOS, 2002).

Possui inúmeras aplicabilidades, desde o uso de sua madeira na construção, uso de seus frutos na produção de uma bebida alcoólica e como condimento, enquanto que na medicina popular suas folhas são conhecidas por sua ação anti-reumática, antiinflamatório, anti-hemorragica, anti-séptica, fungicida, bactericida, cicatrizante, laxativo leve, adstringente, cardiotônica, estimulante digestivo, diurética, estimulante menstrual, estimulante, tônica e antidepressiva (RUFFA et al., 2002; TAYLOR, 2005).

Estudos sugerem outras propriedades de *Schinus molle* tais como: efeito antiparasitário (BALDISSERA et al., 2013), anticancerígena (BENDAOU et al. 2010), inseticida e repelente (ABDEL-SATTAR et al., 2010).

### **3.8.7. *Schinus terebinthifolius* Raddi**

*S.terebinthifolius* pertence a família Anacardiaceae é nativa da América do Sul, introduzida em vários países do mundo com fins ornamentais, sendo tempo depois, considerada um a planta invasora (MORTON, 1978). Ocorre naturalmente no Brasil nos estados de Alagoas, Bahia, Distrito Federal, Espírito Santo, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraíba, Paraná, Pernambuco, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo e Sergipe (CARVALHO, 2003).

É conhecida popularmente como aroeira vermelha, aroeira, aroeira-precose, aroeira-pimenta, aroeira-da-praia-, aroeira-do-brejo, aroeira-negra, aroeira-branca, aroeira-do-campo, aroeira-do-sertão, fruto-de-raposa, aroeira-do-paraná, aroeira-do-sabiá, bálsamo cambuí e pimenta-brasileira (LORENZI, 1992).

Arbusto de até 15 metros de altura. Possui folhas compostas imparipenadas com folíolos elípticos ou oblongos. As flores são pentâmeras, actinomorfas, com cinco sépalas e pétalas com dez estames heterodínamos. Em geral, o número de flores por inflorescências é maior nas plantas masculinas, numa proporção de 1:14 (femininas:masculinas) (FLEIG; KLEIN, 1989; LENZI; ORTH, 2004).

Atividade anticancerígena (BENDAOU et al., 2010), acaricida (NASCIMENTO et al., 2012) e antialérgica (CAVALHER-MACHADO et al., 2008) já foram constatada por meio desta espécie.

#### **3.8.8. *Syzygium cumini* (L.) Skeels**

Planta da família Myrtaceae originária da Índia, China e Antilhas, cultivada em diversos países, como o Brasil, onde é conhecida pelos nomes de jabolão, cereja, Jamelão, jabol, jambu, jambul, murta, azeitona, azeitona-do-nordeste, ameixa-roxa (LORENZI; MATOS, 2002).

Árvore perenifolia de copa frondosa e densa pode variar de 15 a 20 metros de altura. Suas folhas são simples, coriáceas, glabras, aromáticas, lustrosas, com a nervura principal destacada, as flores são dominadas por estames de cor entre o branco e o creme. Os frutos são carnosos do tipo baga, elipsoides, com pericarpo de coloração roxo-escuro intenso quando maduro, apresentando apenas uma semente, com sabor adstringente e agradável (AYYANAR; SUBASH-BABU, 2012; RUFINO, 2008; SÁ, 2008; FARIA; MARQUES; MERCADANTE, 2011).

Estudos atribuem a *Syzygium cumini* atividade anti-inflamatória (SIANI et al., 2013), acaricida (AFIFY et al., 2011), atividade frente a diabetes e ao câncer entre outras (AYYANAR; SUBASH-BABU; IGNACIMUTHU; 2013; GOYAL et al., 2010).

#### **3.8.9. *Psidium cattleianum* L.**

Conhecido popularmente por araçá, china-guava, araçá-amarelo, araçá-vermelho, araçá-do-campo, araçá-manteiga, goiaba, araçazeiro-amarelo e araçazeiro-vermelho (BACKES; NARDINO, 2004; LORENZI, 1992; REITZ; KLEIN; REIS, 1988). A distribuição da espécie em território brasileiro ocorre desde o estado da Bahia até o Rio Grande do Sul, podendo ser encontrado na planície costeira, na Floresta Atlântica e Depressão Central (CORADIN; SIMINSKI; REIS, 2011).

É um arbusto com variação de 1,5 à 3 metros de altura, podendo atingir, raramente, até 10 metros. Suas folhas são glabras ou pubérulas com pequenos pelos nos ramos novos e pecíolos superiores. Apresenta copa arredondada e regular, alguma vezes alongada, com folhagem muito densa de coloração verde escura. As folhas são coriáceas e com as nervuras reduzidas. As inflorescências são

isoladas ou em pequenos dicásios axilares com até 3 flores, sendo a flor central sésil e as outras pediceladas, com corola branca, pétalas em concha, reflexas na antese e estames em torno de 200. Seus frutos são uma baga globosa, com cerca de 4cm de diâmetro com sementes numerosas, de 2-3mm, de polpa amarelo-clara (CAVALCANTE, 1974; REITZ; KLEIN; REIS, 1983).

Na medicina popular é conhecido por sua atuação frente a diabetes, dores de barriga, doenças das vias urinárias e diarreia, onde recomenda-se o uso de brotos, folhas e a casca do tronco (BOSCOLO; SENNA VALLE, 2008; VENDRUSCOLO; MENTZ, 2006).

Ação acaricida (OH et al, 2013) e analgésica (ALVARENGA et al., 2013) já foram descritas e comprovadas pela comunidade científica.



## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1. Plantas estudadas**

Considerando a sua distribuição na região e sua aplicabilidade na medicina popular, exemplares das espécies de *Eucalyptus* sp. Labill., *Eugenia uniflora* L., *Psidium cattleianum* L., *Psidium guajava* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Schinus molle* L., *Schinus terebinthifolius* Raddi., *Syzygium cumini* (L.) Skeels e *Tagetes minuta* L. foram coletadas no município de Pelotas, RS. As plantas foram encaminhadas ao herbário do Instituto de Ciências Biológicas situado da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) para a sua identificação e produção de exsiccatas (MING, 1995).

### **4.2. Produção dos extratos hidroalcoólicos**

Algumas das plantas utilizadas neste estudo foram secas a temperatura ambiente, de modo a obter-se um teor inferior ou igual a 10% de água. Os extratos hidroalcoólicos (EHA) foram preparados utilizando-se uma parte da planta seca para dez partes de álcool de cereais (1:10) a 70 °GL. Após 15 dias em frasco âmbar com agitação manual diária, os extratos foram filtrados e seu volume inicial restituído com álcool na mesma concentração que o utilizado no início do processo. Os extratos produzidos com as plantas frescas foram preparados imediatamente após a coleta das mesmas, sendo utilizado álcool de cereais a 96°GL, na proporção de 1:10 e submetidos aos demais processos (Tabela 1).

Para a utilização dos EHAs, o solvente foi evaporado com o emprego de um evaporador rotativo a aproximadamente 55°C, 50 rpm e sob pressão negativa de 600 mm/Hg. O volume inicial do solvente extraído era repostado com água destilada estéril (ADE) (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010).

**Tabela 1** - Descrição das espécies vegetais, da produção dos EHA e identificação das exsiccatas depositadas no Herbário Pel - UFPel.

<b>Planta</b>	<b>Nome Popular</b>	<b>Parte Utilizada</b>	<b>Condição</b>
<i>Eucalyptus</i> sp.	Eucalipto	Folha	Fresca
<i>E. uniflora</i>	Pitanga	Folha	Seca
<i>P. cattleianum</i>	Araçá	Folha	Seca
<i>P. guajava</i>	Goiaba	Folha	Seca
<i>R. officinalis</i>	Alecrim	Folha	Fresca
<i>S. molle</i>	Aroeira – Brava	Folha	Seca
<i>S.terebinthifolius</i>	Aroeira – Mansa	Folha	Seca
<i>S.terebinthifolius</i>	Aroeira – Mansa	Fruto	Seca
<i>S. cumini</i>	Jambolão	Folha	Fresca
<i>T. minuta</i>	Chinchilho	Parte Aérea	Fresca

#### 4.3. Quantificação de matéria seca

O teor de matéria seca dos extratos foi estabelecida a partir de uma alíquota de 10mL dos EHA em evaporador rotativo, à 55°C em 50 rpm e sob pressão negativa de 600 mm/Hg, até a formação de um resíduo seco. Os resultados foram expressos em % da matéria seca.

#### 4.4. Micro-organismos

As bactérias estudadas foram *Staphylococcus* spp (n=9) e *Escherichia coli* (n=9), isoladas de leite bovino e de tanques de refrigeração de propriedades leiteiras localizadas no município de Pelotas, respectivamente. Cepas de referências de *Staphylococcus aureus* (ATCC 12600) e *Escherichia coli* (ATCC 8739) também foram utilizadas no teste de atividade antimicrobiana.

#### 4.5. Conteúdo total de compostos fenólicos

A quantificação dos compostos fenólicos totais presentes nas amostras dos EHAs ocorreu de acordo com Swain e Hillis (1959) com adaptações. Em um tubo de Falcon adicionou-se 4mL de água destilada, 250µL de álcool metílico, 100µL do extrato e 250 µL do reagente de Folin-Ciocalteau 0,25M, com agitação em vortex e

repouso de 3 minutos, em seguida, 500µL de carbonato de sódio 1M foi adicionado a reação por 2h, sendo realizada a leitura em espectrofotômetro em 725nm (JENWAY 6705 UV/Vis.).

Para a quantificação dos compostos fenólicos utilizou-se uma curva padrão preparada com ácido gálico, sendo os resultados expressos em mg de ácido gálico 100g<sup>-1</sup> de amostra.

#### 4.6. Conteúdo total de carotenóides

Para a avaliação do conteúdo de carotenóides nos EHA realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 450nm, usando etanol como branco, sendo o conteúdo total de carotenoides determinado pela equação abaixo sendo os resultados expressos em µg de β-caroteno de amostra (RODRIGUEZ AMAYA; 2001).

**Equação 1:** Cálculo para quantificação de conteúdos de carotenóides totais

$$C = \frac{ABS \times 50 \text{ mL} \times 1000000}{3450 \times 100 \times g}$$

Onde, C= Conteúdo de carotenoides da amostra; ABS= absorbância; g= gramas de amostra.

#### 4.7. Quantificação de taninos condensados

Para a análise da presença e quantificação de taninos condensados nas amostras, 5mL da solução de vanilina (1% vanilina em metanol com 8% HCl; 1:1) foram adicionados à 1mL de EHA. Utilizou-se 1mL do extrato adicionados à 5mL de metanol com 4% HCl como controle. As amostras permaneceram reagindo por 30 minutos a 100°C. Por último, a leitura foi realizada a 500 nm em espectrofotômetro (JENWAY 6705 UV/Vis.). Os resultados foram expressos em mg de catequina. 100mL<sup>-1</sup> de extrato.

#### 4.8. Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana foi avaliada através da técnica de Macrodiluição em Agar Müller Hinton (AMH) para a obtenção dos valores referentes a Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos EHAs (NCCLS, 2003; BETONI et al., 2006). Os inóculos bacterianos foram preparados através da produção de uma suspensão na escala 0,5 de MacFarland, em solução salina, e diluídas 1:50 e 1:20, sucessivamente, para alcançar a concentração final de  $10^5$  ufc/mL.

Inicialmente, os extratos vegetais eram diluídos em base logarítmica dois em ADE em placas de Petry, obtendo-se diferentes concentrações dos extratos vegetais, calculadas a partir da matéria seca dos mesmos (Tabela 2). Logo, foi acrescentado AMH em igual volume, deixado a temperatura ambiente para o Àgar polimerizar e, então, foram semados 10µL na superfície do mesmo. O material era mantido a 37°C durante 24 h, sendo o experimento realizado em duplicata.

A CIM foi considerada como a média logarítmica da menor concentração capaz de inibir totalmente, o crescimento bacteriano visualizado em AMH de cada duplicata. As médias obtidas foram provenientes dos nove isolados Gram positivos e dos nove isolados de Gram negativos, além da cepa padrão de cada grupo bacteriano.

**Tabela 2:** Variação das concentrações utilizadas no ensaio antibacteriano referente a cada espécie vegetal. Valores obtidos a partir da matéria seca de cada extrato.

Espécie Vegetal	Concentração Máxima mg/mL	Concentração Mínima mg/mL
<i>Eucalyptus</i> sp.	9,83	0,07
<i>E. uniflora</i>	12,77	0,09
<i>P. cattleianum</i>	14,46	0,11
<i>P. guajava</i>	12,2	0,09
<i>R. officinalis</i>	10,91	0,08
<i>S. molle</i>	12,39	0,09
<i>S. terebinthifolius</i> (folha)	13,34	0,1
<i>S. terebinthifolius</i> (fruto)	9,8	0,07
<i>S. cumini</i>	2,99	0,02
<i>T. minuta</i>	12,55	0,09

#### 4.9. Interação entre EHAs e antibióticos

Para a verificação de possíveis interações entre os EHAs e antibióticos, utilizou-se uma concentração igual a  $\frac{1}{4}$  do valor referente a CIM 90% do EHA, calculado segundo Reed & Muench (1938), obtida na Macrodiluição para cada grupo bacteriano. No caso da *Escherichia coli*, onde os extratos não foram efetivos na maior concentração testada, utilizou-se o extrato diluído à 25%.

Foram realizados antibiogramas controle (sem EHA) e tratamento (com EHA) através da metodologia dos discos, preconizadas por KIRBY & BAUER (CLSI, 2005) e adaptada por Betoni et al. (2006). Os efeitos das interações foram verificados com os seguintes antibióticos: Amoxicilina, Ampicilina, Gentamicina, Penicilina, Tetraciclina e Vancomicina.

Após, as placas foram incubadas (37°C / 24 h) e os halos de inibição obtidos (milímetros) foram comparados entre os ensaios tratamentos e controles, sendo classificados como: sinérgicos, indiferentes ou antagônicos através da análise feita pelo teste pareado de T, onde  $p \leq 0,05$  indicava diferença, com média com sinal

positivo indicando sinergismo e média negativa indicando antagonismo. Nos casos onde  $p \geq 0,05$  indicou indiferença (ZAGO et al., 2009).

Os experimentos foram realizados em duplicatas e para a análise estatística utilizou-se a média dos valores observados.

#### 4.10. Atividade antioxidante

A atividade antioxidante dos extratos foi determinada por meio da capacidade dos compostos em seqüestrar o radical estável DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila).

Do extrato, utilizou-se 100 µL, nos quais foram adicionados 3,9 mL da solução de DPPH. Após 30 minutos foram realizadas leituras em espectrofotômetro no comprimento de onda de 517nm. A atividade antioxidante foi expressa em percentual de inibição em 50% do radical DPPH por 100µL de extrato (Equação 2).

Para o cálculo dos valores da concentração dos extratos necessário para reduzir 50% do radical DPPH foi realizada a atividade antioxidante (% de inibição), dos distintos extratos, em diferentes concentrações de forma a traçar uma curva linear entre a capacidade antioxidante do respectivo extrato e sua concentração. Esses dados foram submetidos a uma regressão linear e foi obtida a equação da reta para cálculo deste valor.

**Equação 2:** Fórmula para o cálculo da atividade antioxidante, onde:  $A_b$  é a absorbância do branco e  $A_a$  é a absorbância da amostra.

$$\% \text{ de Inibição} = \frac{A_b - A_a}{A_b} \cdot 100$$

#### 4.11. Citotoxicidade

Em microplacas de 96 poços contendo Meio Essencial Mínimo (MEM), soro fetal bovino à 10% (Gibco), enrofloxacin (10mg ml<sup>-1</sup>) e anfotericina B (0,025 µg ml<sup>-1</sup>), foram preparadas células da linhagem MDBK (Madin-Darby bovine kidney), as quais foram mantidas a 37°C em uma estufa com 5% de CO<sub>2</sub>.

Após o tapete celular ter atingido 90% do seu crescimento, 20 µl dos EHAs, nas concentrações de 1:10 à 1:10240 foram adicionadas ao cultivo de células com MEM, onde permaneceram incubadas por 48 horas adicionais nas mesmas

condições. Células não tratadas com o EHA foram mantidas como controle. O ensaio de vermelho neutro ocorreu após 48 horas de incubação com as diferentes concentrações dos extratos vegetais, sendo retirado o meio contendo os EHAs e adicionado meio contendo  $3.3 \text{ mg}^{-1}$  de vermelho neutro. Com incubação de 2 horas a  $37^\circ\text{C}$  e 5 % de  $\text{CO}_2$ , a solução foi removida e as células lavadas com MEM.

A penetração do corante nas células foi verificada pela adição de  $100 \mu\text{L}$  de solução contendo etanol 50%, ácido acético 1% e água destilada q.s.p. A placa foi mantida a temperatura ambiente por 10 minutos e a leitura das densidades ópticas realizadas em um espectrofotômetro em comprimento de onda de 540 nm.

Foram consideradas concentrações não tóxicas aquelas em que foi possível uma viabilidade celular maior que 90 % quando comparada com o controle de células. A percentagem de viabilidade celular foi calculada mediante a equação 3.

**Equação 3:** Fórmula para o cálculo de viabilidade celular, sendo  $A_t$  a absorbância dos tratados e  $A_c$  a absorbância dos controles.

$$\frac{A_t}{A_c} \cdot 100$$

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Quantificação de compostos fenólicos totais, taninos condensados, carotenóides totais e massa seca.

Uma variação de 61,51 à 1.106,69 mg de ácido gálico. $100\text{g}^{-1}$  foi observado em relação ao conteúdo total de compostos fenólicos (CF) nos dez extratos analisados, valores estes, pertencentes aos EHA de *T. minuta* e *S. terebinthifolius* (Folha), respectivamente. Os teores de taninos condensados (TC) oscilaram de 2,94 mg de catequina / 100mL no extrato de *S. cumini* à 213,06 mg de catequina / 100 mL em *P. cattleianum*. Na determinação de carotenoides totais (CT), observou-se que as espécies estudadas são fontes escassas deste composto, dentre as espécies analisadas, a que mais se destacou foi *S. molle*, apresentando um teor de 3,58 mg de  $\beta$  – caroteno por 100 mL de extrato, seguida de *P. cattleianum* o qual apresentou uma quantia de 3,04 mg de  $\beta$  – caroteno por 100 mL de extrato, enquanto que os menores teores de CT foram observados em *T. minuta* e *S. terebinthifolius* (Fruto) com 0,75 e 0,56 mg, respectivamente (Tabela 3).

A quantificação de massa seca dos EHA variou de 2.892 mg/100mL em *P. cattleianum* à 598 mg/100mL em *S. cumini*, estes dados nos permitem observar a elevada presença de compostos fenólicos nas folhas de *S. terebinthifolius*, representando 41% da massa seca da mesma, sendo a menor proporção de CF, em relação a massa seca, observado no EHA de *T. minuta*, com 2%. O extrato produzido com *S. molle* apresentou um teor de massa seca igual à 2.478 mg/100mL, onde 8% destes referiam-se a compostos fenólicos e 47,44% de taninos condensados equivalendo à 4,18% da massa seca total do extrato (Tabela 4).

Estudos sustentam a relação entre a presença de determinados fitoquímicos com a atividade biológica de extratos vegetais. Ainda que diversos fatores estejam envolvidos nesta relação, plantas com altas concentrações de CF, geralmente, apresentam características antioxidantes, antiinflamatórias, antimicrobianas e



anticarcinogênicas, enquanto que elevados teores de taninos propiciam atividade bactericida, fungicida, moluscida e antiviral (MELLO; SANTOS, 2004), já os carotenóides são descritos por atuarem frente a certos tipos de câncer, por fortalecerem o sistema imunológico, agirem frente a degeneração macular e em doenças cardiovasculares e cataratas, além da sua conhecida atividade antioxidante (KRINSKY, 1994; OLSON, 1999; RIOS; ANTUNES; BIANCHI, 2009).

**Tabela 3:** Teor de compostos fenólicos totais (mg GAE.100 mL<sup>-1</sup>), taninos condensados (mg de catequina / 100 mL<sup>-1</sup>), de carotenóides totais (mg de  $\beta$  – caroteno / 100 mL ) e quantificação de matéria seca presentes em 100 mL de EHA.

Espécie Vegetal	mg de GAE / 100 mL de EHA	mg de catequina / 100mL de extrato	mg de $\beta$ – caroteno / 100 mL	mg / 100 mL de Massa Seca
<i>Eucalyptus</i> sp.	186,6142	7,73	1,81	1.966
<i>E. uniflora</i>	740,6836	15,88	2,60	2.554
<i>P. cattleianum</i>	686,8498	213,06	3,04	2.892
<i>P. guajava</i>	461,7005	143,96	2,05	2.440
<i>R. officinalis</i>	123,0744	7,73	1,05	2.182
<i>S. molle</i>	218,5103	103,68	3,58	2.478
<i>S. terebinthifolius</i> (Folha)	1.106,6956	7,99	1,34	2.669
<i>S. terebinthifolius</i> (Fruto)	382,7539	23,33	0,56	1.979
<i>S. cumini</i>	64,2253	2,94	1,46	598
<i>T. minuta</i>	61,5192	16,85	0,75	2.511

Dentre os fatores que podem interferir durante o processo de extração fitoquímica, o método utilizado e o solvente escolhido são determinantes na obtenção final destes compostos. Segundo Oliveira (2005), o uso de solventes orgânicos, como etanol e metanol, ou uma mistura de solventes orgânicos com água e etanol, podem otimizar o processo extrativo de compostos fenólicos, como é o caso da extração hidroalcoólica.

A importância na escolha da metodologia a ser aplicada na extração de compostos químicos deve-se a grande diversidade de famílias químicas encontradas nos vegetais, onde o teor de compostos fenólicos representa uma fração significativa dos vegetais, podendo atingir 50% da massa seca da casca vegetal, o que pode ser observado em algumas das espécies aqui estudadas (TRUGILHO et al., 1997).

**Tabela 4:** Concentrações dos fitoquímicos com relação ao teor de massa seca em 100 mL de EHA.

<b>Espécie Vegetal</b>	<b>mg / 100 mL de Massa Seca</b>	<b>CFT* %: Massa Seca</b>	<b>TC** % : Massa Seca</b>	<b>TC***%: CFT</b>
<i>Eucalyptus</i> sp.	1.966	9	0,39	4,1
<i>E. uniflora</i>	2.554	29	0,62	2,1
<i>P. cattleianum</i>	2.892	23	7,3	31,02
<i>P. guajava</i>	2.440	18	5,9	31,1
<i>R. officinalis</i>	2.182	5	0,35	6,2
<i>S. molle</i>	2.478	8	4,1	47,4
<i>S. terebinthifolius</i> (Folha)	2.669	41	0,29	0,72
<i>S. terebinthifolius</i> (Fruto)	1.979	19	1,17	6,09
<i>S. cumini</i>	598	10	0,49	4,5
<i>T. minuta</i>	2.511	2	0,67	27,3

\*Conteúdo de Compostos Fenólicos Totais em relação ao teor de massa seca dos EHAs.

\*\* Conteúdo de Taninos Condensados em relação ao teor de massa seca dos EHAs.

\*\*\* Conteúdo de Taninos Condensados em relação ao Conteúdo de Compostos Fenólicos Totais nos EHAs.

## 5.2. Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana foi verificada frente aos dois gêneros bacterianos (Tabela 5). *Staphylococcus* spp. apresentou maior sensibilidade às espécies vegetais sendo inibido por todos os extratos. Ainda que o menor CIM, 0,08 mg/mL, tenha sido verificado com o EHA de *S. cumini*, a folha de *S. terebinthifolius* apresentou a menor oscilação entre a concentração mínima e a máxima necessárias para a inibição do micro-organismo, com a CIM entre 0,2 mg/mL à 0,29 mg/mL.

Em relação a *E. coli*, foi verificado uma inibição apenas na concentração máxima testada, 12,2 mg/mL e 12,55 mg/mL frente aos extratos de *P. guajava* e *T. minuta*, respectivamente. Os demais EHA inibiram este grupo bacteriano em concentrações que variaram de 0,82 mg/mL à 10,12 mg/mL, tendo as folhas de *S. terebinthifolius* demonstrado maior eficiência neste grupo bacteriano com CIM entre 0,82 mg/mL e 3,33 mg/mL. Determinados isolados de *E. coli* não foram inibidos com os EHAs em nenhuma das concentrações testadas, sendo consideradas cepas resistentes.

**Tabela 5:** Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos vegetais expressas em mg/mL frente a *Staphylococcus* spp e *E. coli*.

<b>Espécie Vegetal</b>	<b><i>Staphylococcus</i> spp</b>	<b><i>E.coli</i></b>
<i>Eucalyptus</i> sp.	1,22 - 3,44	4,9 - 9,83*
<i>E. uniflora</i>	1,59 - 3,19	3,19 - 6,3*
<i>P. cattleianum</i>	2,45 – 7,23	5,06 - 10,12*
<i>P. guajava</i>	6,1 – 12,2	12,2*
<i>R. officinalis</i>	5,45 - 10,91	1,8 - 3,8*
<i>S. molle</i>	3,09 - 12,39	3,09 *
<i>S. terebinthifolius</i> (Folha)	0,2 - 0,29	0,82 - 3,33
<i>S. terebinthifolius</i> (Fruto)	0,59 - 1,23	1,23 - 4,94
<i>S. cumini</i>	0,08 - 0,74	1,49 - 2,99*
<i>T. minuta</i>	4,39 - 6,27	12,55*

\*presença de cepas não sensíveis aos EHAs nas concentrações testadas.

Em geral, as bactérias Gram negativas apresentam uma maior resistência aos compostos antimicrobianos, fator atribuído a sua complexidade estrutural, representado por uma barreira resistente a penetração de compostos externos a célula, enzimas presentes em seu espaço periplasmático conhecidas por inativarem determinados grupos antimicrobianos, e ainda, por mecanismos especializados, denominados de bombas de efluxo, conhecidas por expulsarem substâncias estranhas à célula bacteriana (DUFFY; POWER, 2001; KÖHLER; PECHÉRE; PLÉSIAT, 1999; NIKAIDO, 1989; SCHAECHTER et al., 2002; SARTORI et al., 2003; VAN BAMBEKE; MICHOT; TULKENS, 2003). Esta resistência foi verificada no presente estudo ainda que algumas espécies tenham apresentado uma resposta efetiva frente a este grupo bacteriano. A atividade de *S. terebinthifolius* foi relatada em pesquisas anteriores descrevendo sua ação frente a *E.coli* e *S.aureus*, demonstrando a ação do óleo essencial desta planta através das zonas de inibição de 14 e 20 milímetros de diâmetro, respectivamente, resultados semelhantes ao do presente estudo, onde a ação frente bactérias Gram positivas e negativas foi verificada (MONTANARI et al., 2012). Um efeito antimicrobiano moderado foi verificado por Silva et al (2010), os quais obtiveram uma variação da CIM, referente ao óleo essencial *S. terebinthifolius*, de 78,1 a 1.250 ug/ml, havendo apenas efeito bacteriostático em isolados de otite canina.

A ação desta espécie vegetal frente as bactérias utilizadas neste trabalho pode estar associada ao elevado teor de compostos fenólicos totais observados neste extrato vegetal, induzindo uma resposta eficiente frente aos micro-organismos estudados. Em relação a atividade antimicrobiana, o mecanismo de ação dos compostos fenólicos deve-se a sua ação frente a degradação da parede celular bacteriana, danos à membrana citoplasmática, extravasamento de material celular, coagulação do citoplasma e à desregulação do sistema de transporte de íons e elétrons no sistema membranário, sendo que o rompimento da membrana citoplasmática leva a saída de elementos vitais e a entrada de substâncias nocivas a célula bacteriana (BURT, 2004; TAVARES, 1999).

A presença de compostos antimicrobianos em vegetais, assim como seu uso no tratamento de infecções são descritas e observadas ao longo dos anos. No decorrer da vida, as espécies vegetais enfrentam inúmeras injúrias advindas do ambiente sendo capazes de produzirem compostos antimicrobianos para sua

proteção frente a infecções ocasionadas por patógenos como bactérias, fungos e vírus (ESQUENAZI et al., 2002; RODRIGUES, 1980; WOJTASZEK, 1997; YUNES; CALIXTO, 2001;).

Os taninos, por sua vez, possuem uma atividade biológica associada a sua capacidade de formar complexos com polissacarídeos, proteínas e íons metálicos (MELLO; SANTOS, 2004) por meio de interações não-específicas, assim, a atividade antimicrobiana dos taninos pode estar envolvida com a inativação de adesinas, enzimas e proteínas transportadoras do envelope celular (SIMÕES et al., 2004). Deste modo, é possível sugerir uma relação entre o teor de taninos condensados com a atividade antimicrobiana do extrato de *P.cattleianum*, *P. guajava* e *S. mole*, os quais apresentaram as maiores concentrações do fitoquímico, com 213,06; 143,96 e 103,68 mg de catequina / 100 mL, contemplando 31,02; 31,18 e 47,44% do teor total de compostos fenólicos nos extratos, os quais produziram uma CIM que variou de 2,45 mg/mL à 12,2 mg/mL para *Staphylococcus* spp e 3,09 mg/mL à 12,2 mg/mL para *E. coli*.

*S. cumini* apresentou um potencial antimicrobiano de maior relevância ao gênero *Staphylococcus* com CIM de 0,08 à 0,74 mg/mL e de 1,49 à 2,99 mg/mL para *E. coli*, havendo a presença de cepas Gram negativas resistentes ao extrato, assim como descrito por Mota et al (2013) que relataram uma sensibilidade maior de bactérias Gram positivas ao extrato hidroalcoólico da planta, com CIM de 3,9 à 31,4%, em relação as Gram negativas, as quais apresentaram-se como resistentes ou sensíveis na concentração de 50%. Resultados opostos foram relatados por Michelin et al (2005), ao avaliarem o extrato seco de *S. cumini* frente três a cepas padrões e a onze isolados resistentes a antibióticos, verificando-se uma ação satisfatória do extrato sobre bactérias Gram negativas, inibindo somente na concentração de 60 mg/mL os dois grupos bacterianos.

Ainda que *S.cumimi* e *T. minuta* tenham apresentado as menores concentrações de compostos fenólicos totais, ambas as espécies demonstraram relevante atividade antimicrobiana frente a bactérias Gram positivas e Gram negativas. Estes resultados sugerem que demais substâncias, que não as fenólicas, estejam relacionadas com a bioatividade dessas amostras. Outra hipótese é a forte capacidade antimicrobiana dos compostos fenólicos presentes nas amostras obtidas com a extração

hidroalcoolica, que ainda que em pequenas concentrações manifestaram-se proporcionando uma ação antimicrobiana eficaz.

Na literatura, *P. cattleianum* teve seu óleo essencial estudado quanto a sua propriedade antimicrobiana não apresentando os efeitos desejados, no entanto, o extrato produzido com acetato de etila apresentou ação moderada contra bactérias Gram positivas com CIM igual a 62,5 µg/mL (DESOTI et al., 2011; PRESTES et al., 2011). Estes resultados opostos podem estar relacionados com o método extrativo e o solvente utilizado no processo, já que os autores utilizaram solventes e métodos extrativos distintos, o que pode ter influenciado na recuperação dos compostos bioativos e na determinação das propriedades dos vegetais (KOBÁ et al., 2007).

Muitos são os métodos empregados no preparo de extratos vegetais, no entanto, Cechinel; Yunes (1998), sugerem a extração hidroalcoólica realizada como a mais adequada para a obtenção de um extrato vegetal bruto.

Dentre os EHAs, observou-se que para *E. coli* os melhores resultados foram obtidos com a espécie de *S. terebinthifolius*, destacando-se o extrato da folha seguida pelo fruto. A CIM estabelecida pela ação do fruto desta espécie variou de 1,23 à 4,94 mg/mL. Estes resultados diferem dos apresentados por Degáspari et al (2005) que não obtiveram resultados efetivos a partir da extração alcoólica e aquosa dos frutos da planta frente a bactérias Gram negativas. Neste presente estudo, os frutos de *S. terebinthifolius* também exerceram resultados expressivos em relação a *Staphylococcus* spp com variação da CIM entre 0,59 à 1,23 g/mL.

Degáspari et al (2005) demonstraram um efeito inibitório sobre o crescimento de bactérias da espécie *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus* a partir da extração alcoólica dos frutos de *S. terebinthifolius*, apresentando halos de inibição de 9 e 11 mm, respectivamente. No entanto, os mesmos autores, ao analisarem o extrato aquoso desta espécie vegetal, aquecido a 50°C, o mesmo demonstrou não possuir efeitos sobre o crescimento bacteriano. Segundo o autor, este resultado pode estar relacionado com a pequena quantidade de compostos fenólicos presentes no extrato aquoso impregnado no material utilizado na análise de sensibilidade antibacteriana, realizado através do método de difusão em disco.

Resultados distintos, como os descritos acima, podem estar relacionados com os métodos utilizados na extração vegetal, levando a perda de constituintes ativos,

que também pode estar associada, ao aquecimento na produção de um extrato, além do solvente utilizado no preparo destes (MARTINAZZO, 2006).

A resistência dos isolados de *E. coli* utilizados nesta pesquisa frente aos EHAs de *P. guajava* e *T. minuta*, não condiz com os resultados descritos na literatura. Prestes et al (2011) constataram a atividade antimicrobiana do óleo essencial da goiaba verificando uma ação bactericida frente a -organismos como *E. coli* e *Staphylococcus aureus* com inibição em concentrações de 2 e 8 %, respectivamente. Do mesmo modo, *T. minuta* possui atividade antibacteriana frente a bactérias Gram positivas e negativas comprovada por Gonçalves et al (2013). Em seu estudo comparativo entre o óleo essencial e o extrato hidroalcoólico, ambos demonstraram atuar frente a bactérias estudadas, tendo sido o óleo essencial mais efetivo, com MIC de 0,62% para um isolado de *Staphylococcus coagulase* positiva e de 5% para *E. coli* ATCC. No entanto, no mesmo estudo, o extrato hidroalcoólico de *Tagetes minuta* inibiu somente a multiplicação de bactérias Gram positivas, havendo resistência por parte das Gram negativas, corroborando com os resultados expressos na presente pesquisa. Ainda que o extrato hidroalcoólico de *T. minuta* tenha demonstrado baixa atividade sobre bactérias Gram negativas, o mesmo foi descrito como antifúngico, com ação relatada frente a dermatófitos. Estes resultados foram observados por Schuch et al (2008a) havendo maior sensibilidade frente a *Microsporum canis*.

Ainda que se observe uma maior resistência aos agentes antimicrobianos, as bactérias Gram negativas podem ser sensibilizadas devido a proteção parcial conferida por sua membrana externa onde determinados compostos de baixo peso molecular e por meio de difusão cruzam a parede externa bacteriana por meio de lipopolissacarídeos ou proteínas de membrana afetando a célula bacteriana (GRIFFIN et al., 1999).

*E. uniflora* e *Eucalyptus* sp., apresentaram resultados satisfatórios frente ao gênero *Staphylococcus* spp, com variações de MIC entre 1,59 à 3,19 mg/mL e de 1,22 à 3,44 mg/mL, respectivamente, enquanto que sua atividade frente a *E. coli* foi considerada moderada, com CIM de 3,19 à 6,3 mg/mL para o extrato de pitanga e 4,9 à 9,83 mg/mL para o extrato de eucalipto, havendo a presença de cepas resistentes às concentrações testadas em ambos os extratos. *E. uniflora*, conforme resultados divulgados por Auricchio (2007), demonstrou ação frente a bactérias como *Staphylococcus aureus*, com 80 µg/mL, e *Pseudomonas aeruginosa*, com 400 µg/mL



do seu o extrato hidroetanólico. Já nos resultados obtidos por Prestes et al (2011), o óleo essencial resultou na inibição de *Staphylococcus aureus* e *Salmonella typhimurium* na concentração de 8%. Ação antifúngica da espécie foi observada, com inibição do gênero *Candida* na concentração de 500µg/mL de extrato hidroalcoólico por Auricchio (2007) e a partir do óleo essencial de Lima et al (2006).

Assim como foi realizado no que se refere ao EHA de *Eucalyptus* sp, Takahashi et al., (2004) sugerem o seu uso quando ainda fresco, uma vez que, seus principais componentes antibacterianos são descritos na literatura como óleos voláteis, os quais podem perder-se no processo de secagem e armazenamento o que explica o melhor efeito da folha verde, observado por Mota et al (2011) sobre isolados de *S. aureus*, em relação as folhas secas da planta. A atividade antimicrobiana do decocto e do extrato hidroalcoólico de eucalipto apresentaram ação frente a dermatófitos de interesse em saúde pública, sendo observada uma maior efetividade do extrato hidroalcoólico frente aos agentes fúngicos (SCHUCH et al., 2008a), bem como, a sua atividade frente a bactérias relacionadas com a mastite bovina, onde o EHA da planta demonstrou-se mais eficiente na inativação por contato dos micro-organismos em relação ao decocto, com os tempos necessários para a inativação variando de 10 segundos a 30 minutos (SCHUCH et al., 2008b). O óleo essencial de cinco espécies de *Eucalyptus* foi capaz de inibir o crescimento de bactérias Gram positivas e Gram negativas, com halos de inibição variando de 8 à 20 mm de diâmetro (ESTANISLAU et al., 2001).

Observou-se que as demais espécies vegetais apresentaram efeitos moderados sob os micro-organismos analisados. Frente a *S. aureus* o extrato etanólico de *S.molle* demonstrou atividade em estudos realizados por Cruz-Carrillo et al (2010), o qual não apresentou eficiência em bactérias Gram negativas como *E. coli* e *P. aeruginosa*, diferentemente do observado neste estudo, já Guerra-Boone et al (2013), relataram a inibição de *S. aureus* e *Streptococcus pyogenes* pelo óleo essencial desta espécie.

O óleo essencial do *R. officinalis* foi analisado quanto a sua atividade antimicrobiana por Celiktas et al (2005) verificando uma atividade antibacteriana moderada, sensibilizando *Enterococcus faecalis* e *Proteus vulgaris*, porém, o extrato metanólico agiu fracamente em *S. aureus*, não demonstrando ação frente aos demais microrgansimos de importância em saúde pública, como *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*

e *Candida albicans*. Neste estudo, levou-se em consideração a diferença de localização da coleta das plantas, bem como, a variação sazonal em que as coletas ocorreram, deste modo, a maior atividade, em relação ao óleo essencial de *R. officinalis*, foi verificado com a planta coletada na primavera, sendo observadas diferenças nos valores de inibição quanto a sazonalidade e localização das plantas.

A diversidade de resultados observado nos estudos conduzidos por outros pesquisadores demonstra os inúmeros fatores que influenciam na atividade biológica de uma planta considerada medicinal a qual geralmente está associada ao metabolismo secundário e seus subprodutos. Alterações climáticas, temporais ou ambientais como sazonalidade, desenvolvimento, altitude, ritmo circadiano, temperatura, disponibilidade hídrica, nutrientes, radiação ultravioleta, poluição atmosférica e ataque de patógenos são alguns fatores que podem modificar a produção de compostos bioativos e influenciar na resposta esperada (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Segundo Rios e Recio (2005) a variação de resultados obtidos em pesquisas realizadas com plantas medicinais está relacionada com a falta de uniformidade nos critérios utilizados o que vêm a acarretar contradições. Deste modo, faz-se necessário, por parte dos autores, uma metodologia com descrições mais elaboradas e específicas quanto as condições em que as espécies vegetais se encontram nos ensaios clínicos para que se possa traçar um padrão uniforme quanto as suas características biológicas e químicas a fim de se estabelecer um perfil de suas propriedades bioativas.

### **5.3. Interação entre extratos hidroalcoólicos e antibióticos**

Diferentes efeitos foram observados nas associações entre as espécies vegetais e os antibióticos em cada grupo bacteriano. Do total das 120 combinações entre os extratos das plantas e as drogas antimicrobianas avaliadas neste estudo, 15% destas apresentaram efeito sinérgico, indicando que houve potencialização da ação do antibiótico frente à bactéria testada.

O gênero *Staphylococcus* demonstrou maior susceptibilidade à interferência das associações entre antimicrobianos, sendo verificados 14 eventos (23,3%) de interações sinérgicas, para um total de 60 combinações possíveis, enquanto que *E.*

*coli* apresentou 4 casos sinérgicos, ou seja, 6,66% de sinergismo. A diferença de sensibilidade dentre os grupos bacterianos, em ensaios sinérgicos, foram observadas por Zago et al., (2009), sendo estes resultados justificados devido a estrutura complexa das bactérias Gram negativas, as quais apresentam-se menos sensíveis às interações entre drogas antibacterianas e plantas medicinais (OLIVEIRA et al., 2006).

Nos ensaios realizados com *Staphylococcus* spp., *T. minuta* e *R. officinalis* apresentaram os maiores índices de efeitos sinérgicos, observados em cinco dos seis antimicrobianos testados, nestes EHAs não foi verificado antagonismo. Em seguida, *S. cumini*, *P. guajava*, *Eucalyptus* sp. e *S. molle* apresentaram efeitos sinérgicos frente a um dos antibióticos apenas, enquanto que no extrato de *P. cattleianum* não ocorreu sinergismo na associação com as drogas usadas, sendo verificado um efeito antagônico somente com a amoxicilina. Nos EHA de *E. uniflora*, *S. terebinthifolius* (folha e fruto) não foram observados nenhum efeito sinérgico, mas sim, os maiores índices de antagonismos, frente a três (folha de *S. terebinthifolius*) e duas drogas antimicrobianas (*E. uniflora* e fruto de *S. terebinthifolius*).

Em *Staphylococcus* spp a penicilina e a vancomicina, apresentaram o maior número de relações sinérgicas com os EHAs, ambas frente a quatro extratos, sugerindo uma ação dos extratos vegetais em conjunto com os antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, com atuação frente a parede celular bacteriana dos Gram positivos. Já a gentamicina e tetraciclina atuaram de forma sinérgica em somente dois dos dez extratos vegetais, enquanto que a amoxicilina e ampicilina demonstraram sinergismo apenas em uma ocasião, com *R. officinalis* e *T. minuta*.

Em relação aos ensaios com *E. coli* os melhores resultados foram verificados com o EHA do fruto de *S. terebinthifolius*, onde se obteve três interações sinérgicas com as drogas antimicrobianas, seguido da sua folha com uma interação sinérgica apenas. Os demais extratos não apresentaram efeitos sinérgicos. *Eucalyptus* sp., *T. minuta*, *P. cattleianum* e *E. uniflora* foram os extratos com maiores números de relações antagônicas, com cinco (*Eucalyptus* sp) três (*T. minuta*) e dois (*P. cattleianum* e *E. uniflora*) dos antibióticos. Quanto às drogas antimicrobianas a vancomicina apresentou o maior número de sinergismo com dois dos extratos estudados, já com a gentamicina foi verificado os maiores casos de antagonismo, a qual, não apresentou nenhuma interação sinérgica com os EHAs mas nove interações antagônicas.

Nas bactérias Gram negativas observou-se 28,3% de interações antagônicas, onde a associação com extratos vegetais diminuíram o efeito isolado das drogas antimicrobianas. Efeitos antagônicos podem significar uma competição das substâncias antimicrobianas por uma mesma molécula alvo, resultando em atividade de antagonismo, diminuindo o efeito antibacteriano dos compostos (D'ARRIGO et al., 2010).

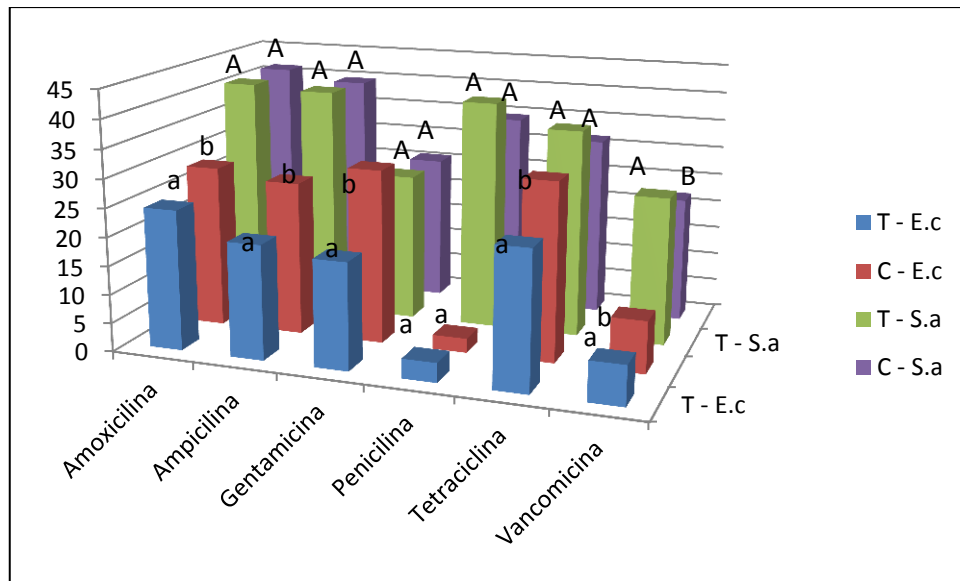
A compreensão molecular dos mecanismos de sinergia, bem como, a confirmação do sinergismo entre produtos naturais e antimicrobianos sintéticos permitem a criação de uma nova estratégia ao tratamento de doenças infecciosas (HEMAISWARYA; KRUTHIVENTI; DOBLE, 2008). Diversos são os mecanismos sinérgicos, podendo estar associados a inibição de uma ou mais etapas de uma mesma reação bioquímica essencial a sobrevivência microbiana, inibição de enzimas protetoras de bactérias, uso da combinação de agentes microbianos com atuação na parede celular com o intuito de maximizar a ação de demais agentes ou utilização de antimicrobianos que se ligam à subunidade 50s do ribossomo bacteriano (STARLING; BISCOTTO, 2001).

Deve-se considerar que mesmo as plantas que não apresentaram um efeito antimicrobiano eficiente, quando expostas a administração conjunta com drogas antimicrobianas desempenharam um efeito antimicrobiano satisfatório, este foi o caso de *R. officinalis* para *S. aureus*.

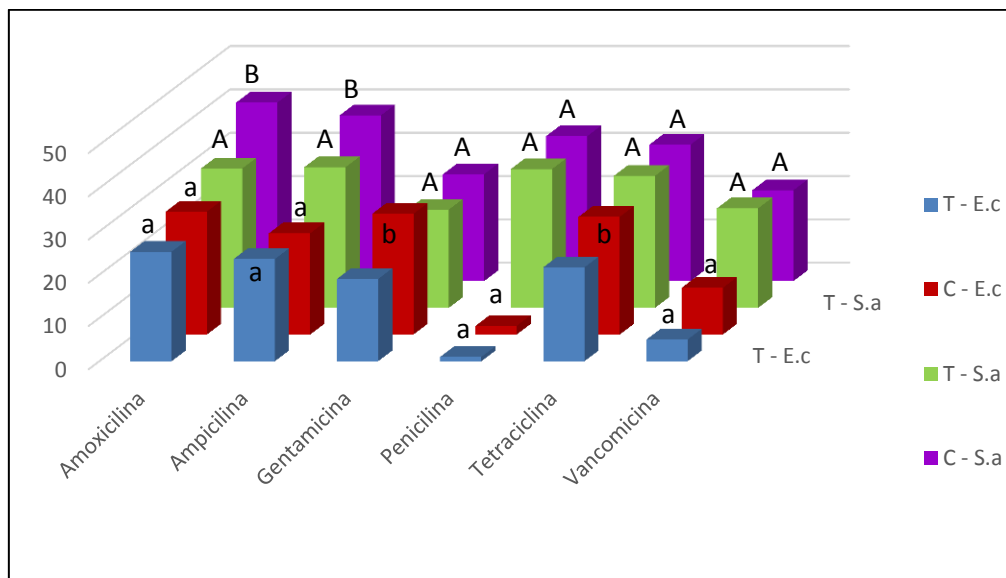
Apesar de atuarem de forma eficiente, os antimicrobianos sintéticos ocasionam efeitos colaterais principalmente no que se refere a terapias prolongadas. A minimização destes efeitos pode ser obtida por meio da redução da dose clínica de alguns antibióticos a partir da sua associação com produtos de ação antimicrobiana de origem natural, diminuindo a incidência de efeitos colaterais e ao mesmo tempo potencializando a antibioticoterapia no tratamento de infecções em que a resistência bacteriana é um fator determinante (MARSHALL, 1995).

Os dados obtidos neste estudo indicam a possibilidade da associação entre extratos vegetais e drogas antimicrobianas, considerando as plantas medicinais como importantes veículos no controle da resistência bacteriana e no tratamento das doenças infecciosas.

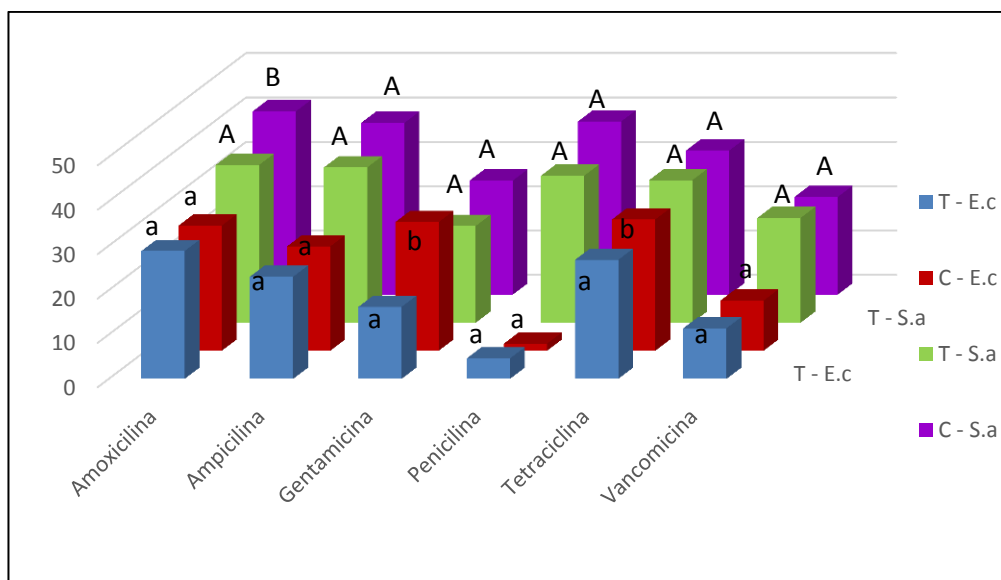
As figuras abaixo descrevem as médias referentes aos controles e aos tratamentos dos ensaios frente a *E. coli* e *Staphylococcus* spp.



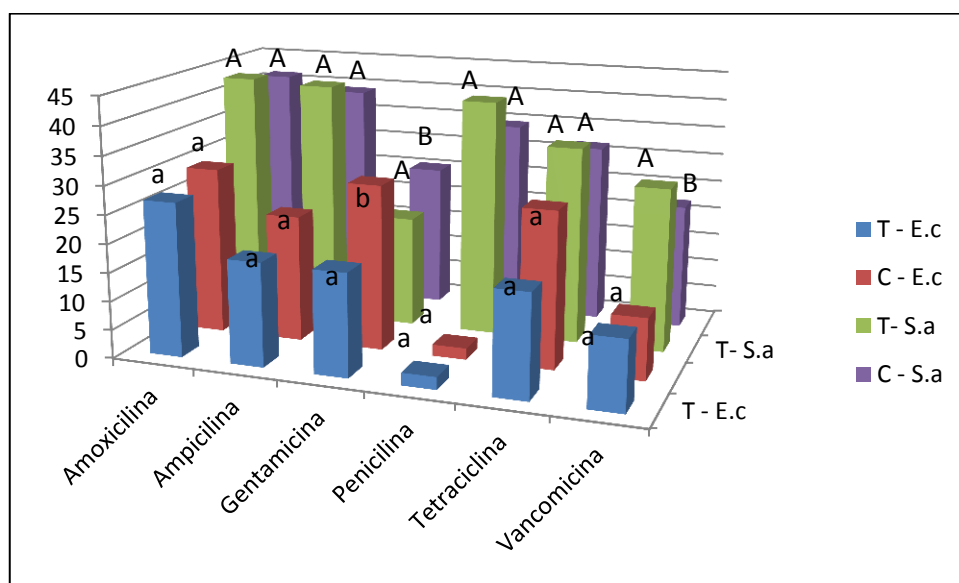
**Figura 1:** Valores médios dos halos de inibição bacteriana na presença (T) ou ausência (C) do EHA de *Eucalyptus* sp frente aos seis antibióticos sobre *Staphylococcus* spp (S.a) ou *E.coli* (E.c). Para letras iguais, não há diferença significativa entre os tratamentos.



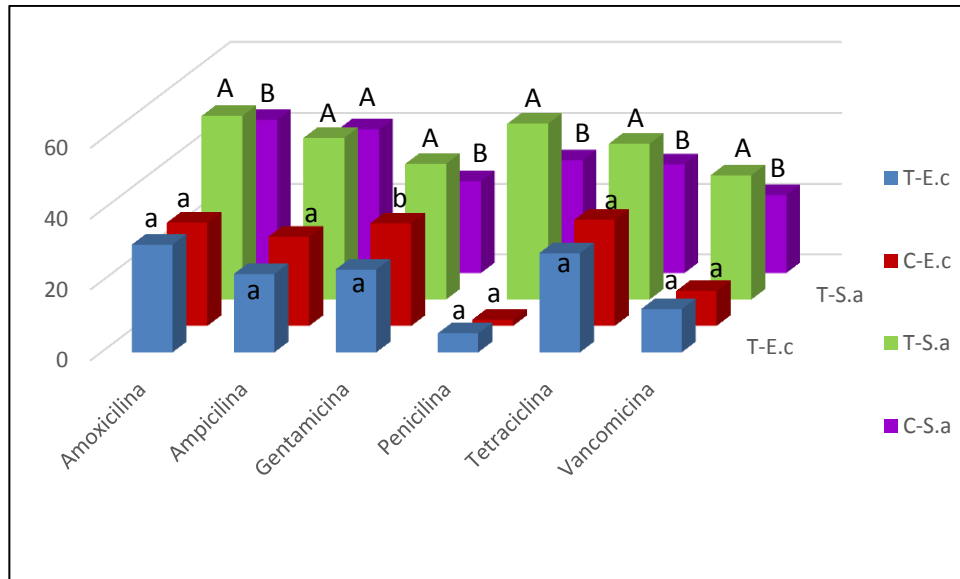
**Figura 2:** Valores médios dos halos de inibição bacteriana na presença (T) ou ausência (C) do EHA de *E. uniflora* frente aos seis antibióticos sobre *Staphylococcus* spp (S.a) ou *E.coli* (E.c). Para letras iguais, não há diferença significativa entre os tratamentos.



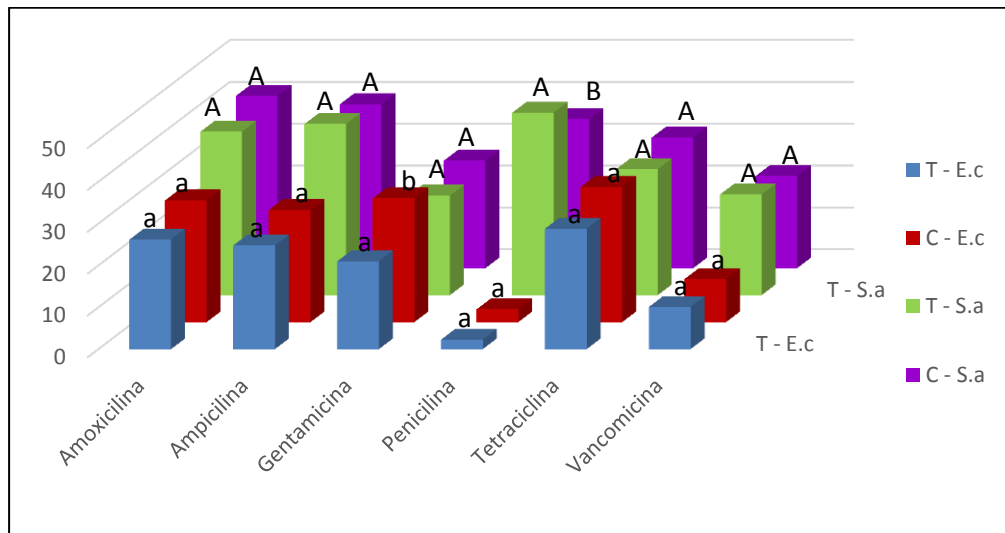
**Figura 3:** Valores médios dos halos de inibição bacteriana na presença (T) ou ausência (C) do EHA de *P.cattleiam* frente aos seis antibióticos sobre *Staphylococcus* spp (S.a) ou *E.coli* (E.c). Para letras iguais, não há diferença significativa entre os tratamentos.



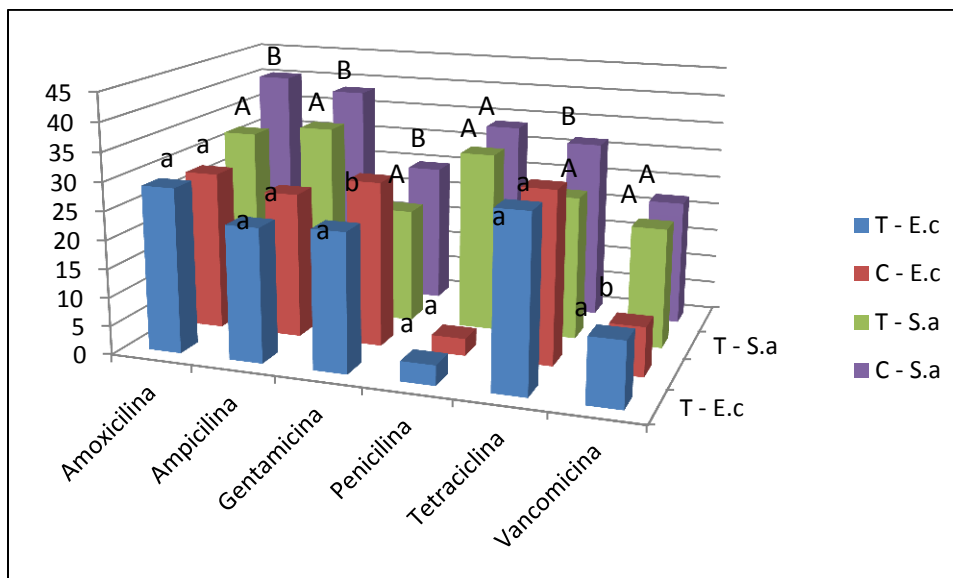
**Figura 4:** Valores médios dos halos de inibição bacteriana na presença (T) ou ausência (C) do EHA de *P.guajava* frente aos seis antibióticos sobre *Staphylococcus* spp (S.a) ou *E.coli* (E.c). Para letras iguais, não há diferença significativa entre os tratamentos.



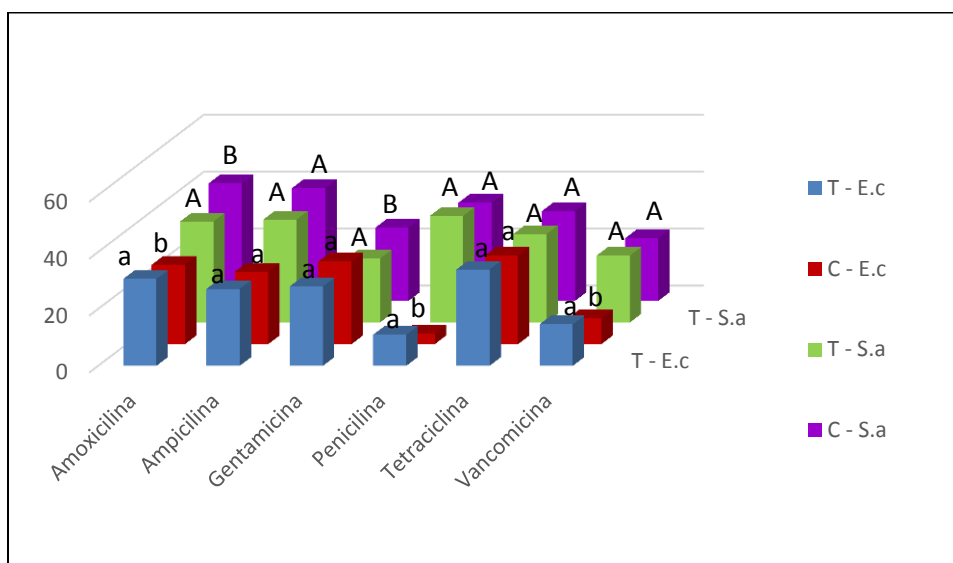
**Figura 5:** Valores médios dos halos de inibição bacteriana na presença (T) ou ausência (C) do EHA de *R.officinalis* frente aos seis antibióticos sobre *Staphylococcus* spp (S.a) ou *E.coli* (E.c). Para letras iguais, não há diferença significativa entre os tratamentos.



**Figura 6:** Valores médios dos halos de inibição bacteriana na presença (T) ou ausência (C) do EHA de *S.molle* frente aos seis antibióticos sobre *Staphylococcus* spp (S.a) ou *E.coli* (E.c). Para letras iguais, não há diferença significativa entre os tratamentos.

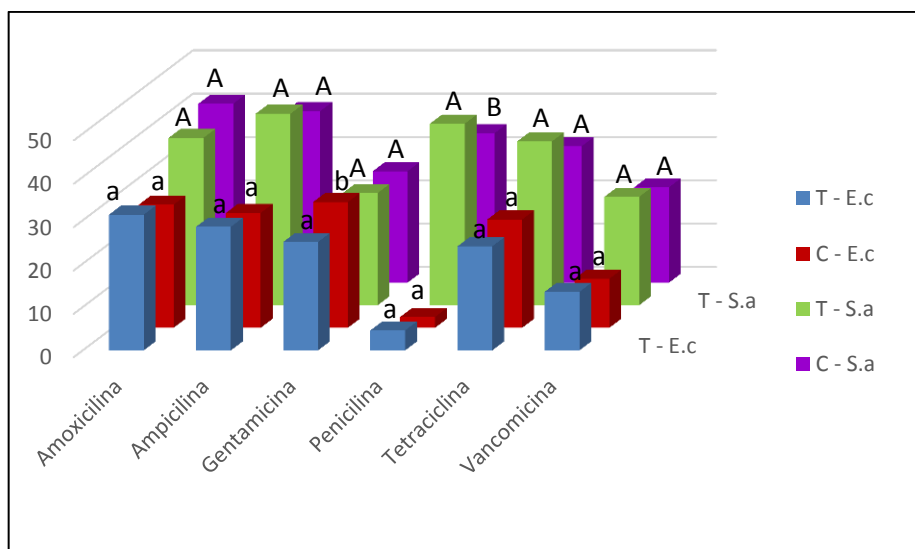


**Figura 7:** Valores médios dos halos de inibição bacteriana na presença (T) ou ausência (C) do EHA da folha da aroeira frente aos seis antibióticos sobre *Staphylococcus* spp (S.a) ou *E.coli* (E.c). Letras iguais, não há diferença significativa entre os tratamentos.

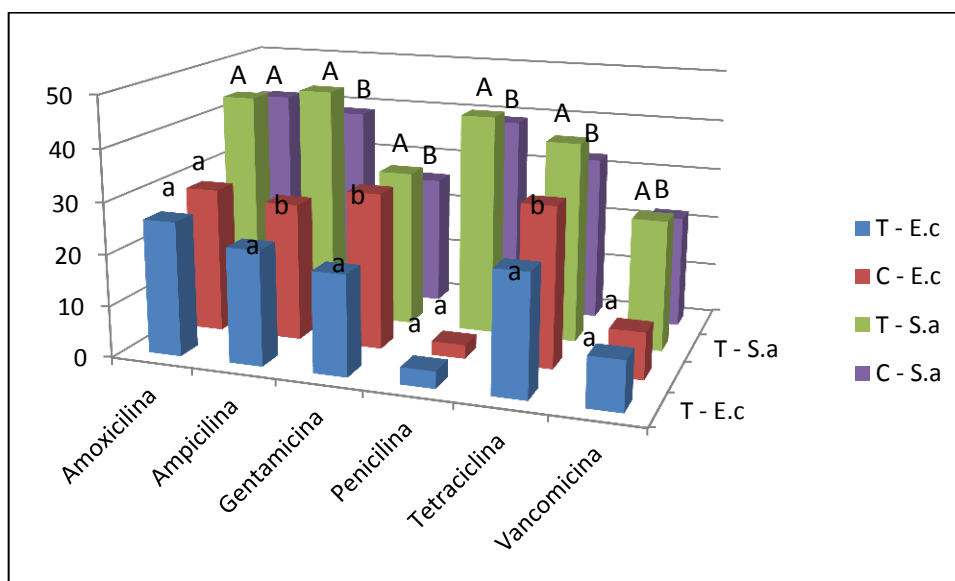


**Figura 8:** Valores médios dos halos de inibição bacteriana na presença (T) ou ausência (C) do EHA do fruto da aroeira frente aos seis antibióticos sobre *Staphylococcus* spp (S.a) ou *E.coli* (E.c). Letras iguais, não há diferença significativa entre os tratamentos.





**Figura 9:** Valores médios dos halos de inibição bacteriana na presença (T) ou ausência (C) do EHA de *S. cumini* frente aos seis antibióticos sobre *Staphylococcus* spp (S.a) ou *E. coli* (E.c). Para letras iguais, não há diferença significativa entre os tratamentos.

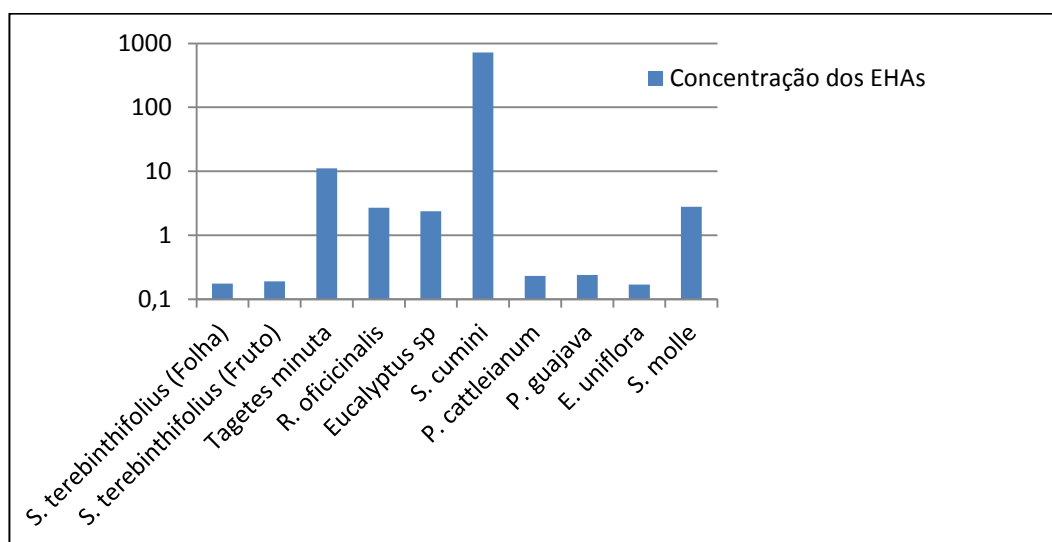


**Figura 10:** Valores médios dos halos de inibição bacteriana na presença (T) ou ausência (C) do EHA de *T. minuta* frente aos seis antibióticos sobre *Staphylococcus* spp (S.a) ou *E. coli* (E.c). Para letras iguais, não há diferença significativa entre os tratamentos.

#### 5.4. Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi analisada de acordo com a concentração necessária para inibir em 50% o radical DPPH.

Os resultados descritos na Figura 11 descrevem a concentração necessária presentes em 1mL de amostra para a ocorrência da inibição do radical em 50%, assim, nota-se, uma expressiva ação encontrada na maioria dos EHAs. O EHA de *S.terebinthifolius* (Folha) e de *E. uniflora* apresentaram os melhores efeitos antioxidantes inibindo em 50% do DPPH na concentração de 0,17 mg/mL, concentração esta muito próxima ao fruto de *S. terebinthifolius*, cuja inibição do radical ocorreu com 0,19 mg/mL do referido extrato.



**Figura 11:** Valores logarítmicos referentes a atividade antioxidante dos EHAs expressos na concentração em mg/mL necessária para a inibição em 50% do radical DPPH (mg/mL).

Em seguida, os EHAs que apresentaram as maiores atividades antioxidantes e foram: *P. cattleianum* com 0,23 mg/mL, *P. guajava* com 0,24 mg/mL, *Eucalyptus* sp. com 2,37 mg/mL, *R. officinalis* com 2,68 mg/mL, *S. molle* com 2,8 mg/mL, *T. minuta* com 11,17 mg/mL e por último *S. cumini* com o maior valor apresentado igual a 717,6 mg/mL necessários para inibir o DPPH.

Ainda que a presença de carotenóides em vegetais seja constantemente relacionada à sua atividade antioxidante esta associação não foi verificada neste estudo, uma vez que os EHAs apresentaram baixos teores de CT, entretanto, os expressivos valores antioxidantes obtidos para os EHAs da folha de *S.terebinthifolius* e de *E. uniflora* podem possuir relação com o teor de CF totais encontrados nestas amostras, ambas com valores elevados em comparação aos demais extratos. Estudos descrevem a existência de uma correlação entre o conteúdo de compostos fenólicos com a capacidade de inibir a oxidação pela captura do radical DPPH de

extratos vegetais. A atividade antioxidante desses compostos depende de sua capacidade em seqüestrar radicais livres, de sua atuação em conjunto com outras moléculas antioxidantes, além de sua estrutura química (SOARES, 2002).

Bendaoud et al (2010) verificaram uma forte ação antioxidante a partir do óleo essencial de *S. terebinthifolius*. Para Ross; Kasum (2002) o potencial antioxidante desta espécie está associado ao seu teor de compostos fenólicos, com destaque aos flavonóides, o que confirma as observações realizadas no presente estudo.

O estresse oxidativo gerado pelo déficit de antioxidantes no organismo em relação a produção de radicais livres, pode gerar danos aos lipídios, proteínas, carboidratos, ácidos nucléicos e demais substâncias oxidáveis (LEITE, 2003; SIES, 1993). A peroxidação lipídica ou lipoperoxidação é ocasionada por ações fisiológicas e deletérias de processos de oxidação produzindo uma reação em cadeia nos ácidos graxos poliinsaturados de membranas celulares, alterando a permeabilidade, fluidez e integridade das mesmas (ESTREBAUER; ZOLLNER; SHAUR, 1990). Pensando nisso, Auricchio et al (2007) avaliaram a atividade de *E. uniflora* verificando que na concentração de 34,6 µg/mL, o extrato hidroetanólico promoveu a inibição de 50% da lipoperoxidação indicando ação antioxidante moderada em homogenato de cérebro de ratos, demonstrando um efeito superior ao obtido o presente estudo. Já *P. cattleianum* que apresentou uma atividade satisfatória nesta pesquisa, demonstrou efeito antioxidante na concentração de 15,9 µg/mL, com a eliminação de radicais livres evidenciadas pelo método DPPH (ALVARENGA et al., 2013).

As demais plantas utilizadas neste estudo também tiveram sua propriedade antioxidante relatada em outras pesquisas. Asolini et al (2006) constataram em seus ensaios que os extratos aquosos e etanólicos dos chás de alecrim, apresentam atividades antioxidantes superiores à do controle com etanol 80% utilizado pelos autores, com atividade acima de 84%, conseqüentemente acima do controle (62%). Ilha et al (2008) analisaram o potencial do extrato etanólico de *P. guajava* por meio da atividade seqüestrante de radical DPPH e obtiveram uma ação considerável e mais eficiente do que as substâncias puras testadas como padrão (vitamina C e cisteína). Estes resultados indicam uma atividade promissora da goiaba como um agente antioxidante já que a vitamina C é conhecida pela sua agilidade e eficiência quanto a neutralização das ERO por transferência de elétrons, inibição da liporeroxidação, enquanto que a cisteína é precursora da glutatona, um importante agente

antioxidante que depende da concentração intracelular da cisteína para ser sintetizado (HSU; GUO, 2002).

Similar ao extrato de goiaba, Ben Hassine et al (2012) obtiveram resultados eficientes com o extrato aquoso de eucalipto, o qual apresentou dentre inúmeras formas extrativas, os melhores valores no ensaio com DPPH,  $11,4 \pm 0,6$  mg/L, sendo comparável ao da vitamina C ( $4,4 \pm 0,2$  mg/L).

Em pesquisas conduzidas por Guerra-Boone et al (2013) e Mohamed et al (2013), foi constatado a atividade antioxidante de inúmeras espécies vegetais entre elas *S. molle* e *S. cumini*, os resultados foram variáveis, verificando-se uma pequena atividade de *S. molle* nas concentrações de 250 µg/mL, enquanto que a tintura metanólica de *S. cumini* exibiu uma atividade superior a extração com cloreto de metileno e óleos essenciais, com concentrações antioxidante de 13,14 ng, 1,22mg e 0,47 ug, respectivamente.

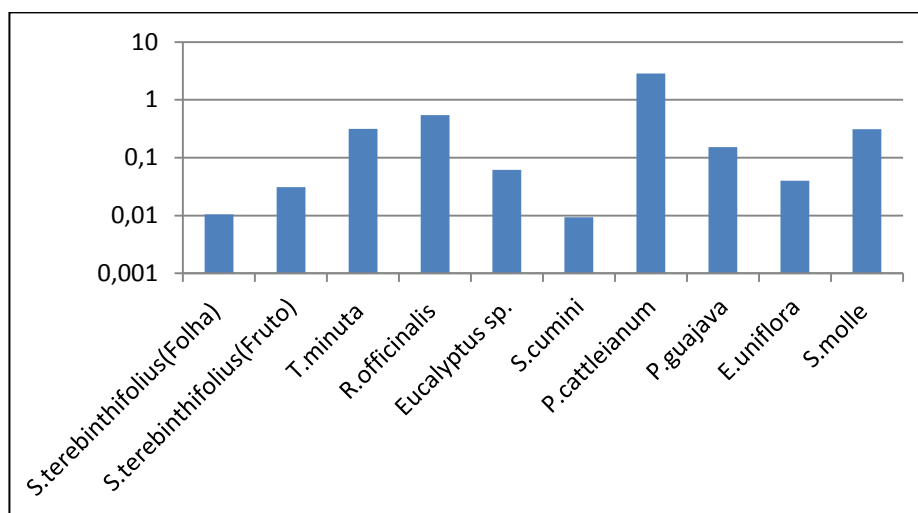
Pode-se observar que os resultados referentes aos efeitos antioxidantes das amostras estudadas para algumas espécies vegetais nesta pesquisa são divergentes aos encontrados na literatura, o que pode estar associados aos solventes utilizados nos estudos citados. Para Xu e Chang (2007), a escolha do solvente pode resultar em diferentes composições fenólicas e seus compostos antioxidantes, sendo os solventes de alta polaridade considerados mais efetivos no seqüestro de radicais livres e na inibição microbiana. Segundo SUN; HO (2005) soluções aquosas de etanol, como extratos hidroalcoólicos, têm sido descritas na extração de antioxidantes a partir de plantas e extratos vegetais de forma eficiente, o que pode justificar os resultados superiores obtidos com os EHAs nesta pesquisa quando comparados com os descritos na literatura.

## 5.5. Citotoxicidade

A viabilidade celular foi verificada em relação ao controle de células não tratadas com os EHA. Nas concentrações testadas, observaram-se percentuais de viabilidade distintas aos diferentes extratos.

As células MDBK toleraram concentrações entre 2,84 à 0,0093 mg/mL dos extratos das plantas. De acordo com os resultados, o extrato produzido com *P. cattleianum* apresentou-se menos tóxico, com uma viabilidade celular de 100% em

sua concentração máxima, de 2,84 mg/mL. Com 96% e 91% de viabilidade celular, *R. officinalis* e *T. minuta*, permitiram concentrações de 0,54 mg/mL e de 0,31 mg/mL nas células testadas. As demais plantas, apresentaram citotoxicidade elevada, observando-se um percentual entre 91% e 98% de viabilidade celular, em concentrações que oscilaram de 0,30 à 0,0093 mg/mL, como pode ser observado na figura 12.



**Figura 12:** Valores, em escala logarítmica, obtidos no teste de citotoxicidade expressos nas concentrações (mg/mL) referente aos EHAs que possibilitaram uma viabilidade celular  $\geq 90$ .

Os menores valores tolerados pelo cultivo realizado com células MDBK, foram observados frente aos EHA produzidos com a folha de *S.cumini*, cujo extrato apresentou uma viabilidade celular de 96%, sendo considerado o mais citotóxico.

A baixa citotoxicidade do EHA de *P. cattleianum* foi verificada em estudos conduzidos por Alvarenga et al (2013), os resultados obtidos pelos autores revelaram que as células de mamíferos utilizadas não foram danificadas pelo extrato, apresentando uma  $DL_{50} > 400 \mu\text{g/mL}$ . No presente estudo, as folhas e frutos de *S. terebinthifolius* demonstraram citotoxicidade em concentrações baixas, 0,010 e 0,030 mg/mL, respectivamente, entretanto, o extrato desta espécie não apresentou efeitos tóxicos ao se avaliar sua toxicidade aguda, nas doses de 0,625 - 5,0 g / kg, e subaguda, nas doses de 0,25; 0,625 e 1,5625 g / kg / dia, em ratos wistar (LIMA et al., 2009).

Tradicionalmente, acredita-se que o consumo de plantas medicinais ocasione efeitos tóxicos menores do que os gerados pelos medicamentos de origem sintética. A avaliação quanto as propriedades tóxicas de extratos vegetais torna-se relevantes

devido ao uso inadequado de plantas ditas medicinais. A toxicidade de algumas plantas pode estar relacionada a sua composição química sendo a presença de triterpenóides e esteróides exemplos de compostos responsável por esses efeitos os quais são responsáveis por inúmeros efeitos deletérios ao organismo humano e animal (ALMEIDA et al., 2002; PEREIRA; CASTRO, 2007).

Na literatura, os estudos encontrados quanto aos efeitos citotóxicos de extratos vegetais são escassos, o que pode contribuir com a exposição dos usuários de plantas medicinais e fitoterápicos aos seus possíveis efeitos nocivos. Nesta pesquisa, o EHA de arará apresentou-se como o menos citotóxico dentre as espécies vegetais testadas. Por se tratar de um estudo *in vitro*, os dados obtidos requerem um maior detalhamento quanto a caracterização de seus componentes químicos individuais.

## 6 CONCLUSÕES

Neste estudo, caracterizou-se nove espécies vegetais presentes na região Sul do Rio Grande do Sul quanto as suas propriedades biológicas, características químicas e efeitos citotóxicos. Assim, observou-se que:

O teor de compostos fenólicos totais variou dentre os extratos hidroalcoólicos, sendo predominante no extrato feito com as folhas de *Schinus terebinthifolius*, seguido de *Eugenia uniflora*, enquanto que a presença de taninos condensados foi predominante na espécie *P. cattleianum*. A presença de carotenóides totais nos EHAs foi considerada escassa.

Os extratos vegetais demonstraram possuir ação frente a bactérias, com maior sensibilidade sob *Staphylococcus* spp. As espécies com os menores MIC, 0,08 e 0,2 mg/mL, e portanto, maior atividade antimicrobiana foi *S. cumini* e *S. terebinthifolius* (folha), respectivamente, enquanto que a interação entre os extratos e antimicrobianos sintéticos foi considerada positiva devido ao índice de efeitos sinérgicos em *Staphylococcus* spp, ainda que *E. coli* tenha demonstrado maior resistências as interações, casos de sinergismos foram observados com a penicilina, amoxicilina e vancomicina. Foi observado um potencial antioxidante na maioria das espécies vegetais, sendo as folhas de *E. uniflora* e de *S. terebinthifolius* as que demonstraram as maiores atividades inibindo o radical DPPH em 50% na concentração de 0,17 mg/ mL. Na concentração de 2,84 mg/mL o extrato de *P. cattleianum* não apresentou efeito citotóxico.

Neste estudo, o extrato com a folha de *S. terebinthifolius* apresentou maiores teores de compostos fenólicos, apresentando expressiva atividade antimicrobiana e antioxidante e, conseqüentemente, os menores valores necessários na inibição do DPPH e de MIC, enquanto que *P. cattleianum* foi considerada a espécie menos citotóxica em uma concentração inferior ao valor de seu MIC e sua concent antioxidante.

## 7 REFERÊNCIAS

ABDEL-SATTAR, E.; ZAITOUN, A. A.; FARAG, M. A.; GAYED, S. H.; HARRAZ, F. M. Chemical composition, insecticidal and insect repellent activity of *Schinus molle* L. leaf and fruit essential oils against *Trogoderma granarium* and *Tribolium castaneum*. **Natural Product Reports**. v.24, n.3, p. 226-35, 2010.

ABEBE, W. Herbal medication: potential for adverse interactions with analgesic drugs. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**, v. 6, n. 27, p. 391-401. 2002.

ABEDINI, A.; ROUMY, V.; MAHIEUX, S.; BIABIANY, M.; STANDAERT-VITSE, A.; RIVIÈRE, C.; SAHPAZ, S.; BAILLEUL, F.; NEUT, C.; HENNEBELLE, T. Rosmarinic Acid and Its Methyl Ester as Antimicrobial Components of the Hydromethanolic Extract of *Hyptis atrorubens* Poit. (Lamiaceae). **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. v.4, n.11, p.41-47, 2013.

ACCORSI, W.R. Medicina natural, um novo conceito: a fórmula: guia de negócios. **Revista Espaço para a Saúde**, v. 2, n. 4, p. 5-8, 2000.

AFIFY-AEL,M.; EL-BELTAGI, H.S.; FAYED, S.A.; SHALABY, E.A. Acaricidal activity of different extracts from *Syzygium cumini* L. Skeels (Pomposia) against *Tetranychus urticae* Koch. **Asian Pacific journal of Tropical Biomedicine**. v.1, n.5, p. 359-64, 2011.

AGRA, M.F., ROCHA, E.A.; FORMIGA, S.C.;LOCATELLI, E. Plantas medicinais dos Cariris Velhos, Paraíba. Parte I: Subclasse Asteridae. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.75, n.3, p.61-4,1994.

AGRA, M. F.; ROCHA, E. A.; LOCATELLI, E. M.; BARRACHO, G. S.; FORMIGA, S. C. **Plantas da medicina popular dos Cariris Velhos (Paraíba, Brasil): Espécies mais comuns**. João Pessoa: União, 1996. 112 p.

AKERELE, O. Medicinal Plants and Primary Health Care: an Agenda for Action. **Fitoterapia**, v.3, n. 5, p.355-63, 1988.

ALBUQUERQUE, U. P.; HANAZAKI, N. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, v. 4, p. 678-689. 2006.

ALBUQUERQUE, U.P.; MEDEIROS, P.M.; ALMEIDA, A.L.; MONTEIRO, J.M.; NETO ,E. M.L.; MELO, J.G.; SANTOS, J.P. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 114, n. 3, p. 325–354, 2007.



ALEXANDRE, R.F.; BAGATINI, F.; SIMÕES, C.M.O. Interações entre fármacos e medicamentos fitoterápicos à base de ginkgo ou ginseng. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.1, p. 117-126, 2008.

ALI, S. S.; KASOJU, N.; LUTHRA, A.; SINGH, A.; SHARANABASAVA, H.; SAHU, A.; BORA, U. Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. **Food Research International**, v.41, n.1, p.1–15, 2008.

ALMEIDA, D. P. F. Cucurbitáceas hortícolas. Apontamentos, Porto, p. 1-2, 2002. Faculdade de Ciências, Universidade do Porto. Disponível em: <<http://dalmeida.com/hortnet/apontamentos/Cucurbitaceas.pdf>>. Acesso em: 16 nove. 2013.

ALVARENGA, F.Q.; MOTA, B.C.; LEITE, M.N.; FONSECA, J.M.; OLIVEIRA, D.A.; ANDRADE, R.V.; SILVA, M.L.; ESPERANDIM, V.; BORGES, A; LAURENTIZ, R.S. In vivo analgesic activity, toxicity and phytochemical screening of the hydroalcoholic extract from the leaves of *Psidium cattleianum* Sabine. **Journal of Ethnopharmacology**, v.150, n.1, p. 280-284, 2013.

AMORIM, J.A. **Fitoterapia popular e saúde da comunidade: diagnóstico para proposta de integração nos serviços de saúde em Campina Grande, Paraíba**. 1999. 206 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo. São Paulo.

AMORIM, A.C.; LIMA, C.K.; HOVELL, A.M.; MIRANDA, A.L.; REZENDE, C.M. Antinociceptive and hypothermic evaluation of the leaf essential oil and isolated terpenoids from *Eugenia uniflora* L. (Brazilian Pitanga). **Phytomedicine**, v.16, n.10, p.923-928, 2009.

ANDREOTTI, R.; GARCIA, M.V.; CUNHA, R.C.; BARROS, J.C. Protective action of *Tagetes minuta* (Asteraceae) essential oil in the control of *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) in a cattle pen trial. **Veterinary Parasitology**, v.197, n.1, p.341-345, 2013.

ANGELO, P. M.; JORGE, J. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 232-240, 2007.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Medicamentos Fitoterápicos – Registros e Políticas. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/fitoterapicos/medicamentos\\_fitoterapicos.pdf](http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/fitoterapicos/medicamentos_fitoterapicos.pdf)>. Acesso em: 10 set. 2013

AQIL, F.; GUPTA, A.; MUNAGALA, R.; KAUSAR, H.; SHARMA, R. J.; SINGH, I. P.; GUPTA, R. C. Antioxidant and antiproliferative activities of anthocyanin/ellagitannin-enriched extracts from *Syzygium cumini* L. (Jamun, the Indian Blackberry). **Nutrition and Cancer**, v.64, n.3, p.428-438, 2012.

ASOLINI,F.C.; TEDESCO,A.M.; CARPES,S.T. Atividade Antioxidante e Antibacteriana dos Compostos Fenólicos dos Extratos de Plantas Usadas como Chás. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.9, n.3, p. 209-215, 2006.

AURICCHIO,M.T.; BUGNO,A.; BARROS,S.B.M.; BACCHI,E.M. Atividades antimicrobiana e antioxidante e toxicidade de *Eugenia uniflora*. **Latin American Journal of Pharmacy**, v.26, n.1, p. 76-81, 2007.

AYYANAR,M.; SUBASH-BABU,P. *Syzygium cumini* (L.) Skeels: A review of its phytochemical constituents and traditional uses. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, n.3, p. 240–246, 2012.

AYYANAR,M.; SUBASH-BABU,P.; IGNACIMUTHU, S. *Syzygium cumini* (L.) Skeels., a novel therapeutic agent for diabetes: folk medicinal and pharmacological evidences. **Complementary Therapies in Medicine**, v.21, n.3, p. 232-43, 2013.

BACHMANN, K.A.; LEWIS, J. D.; FULLER, M. A.; BONFIGLIO, M. F. **Interações Medicamentosas**. 2.ed. São Paulo: Manole, 2006, 887 p.

BACKES, A; NARDINO, M. **Nomes populares e científicos de plantas do Rio Grande do Sul**. 2.ed. São Leopoldo:Unisinos, 2004.

BALDISSERA, M. D.; SILVA, A. S.; OLIVEIRA, C. B.; ZIMMERMANN, C. E.; VAUCHER, A.; SANTOS, R. C.; RECH, V. C.; TONIN, A. A.; GIONGO, J. L.; MATTOS, C. B; KOESTER, L.; SANTURIO, J. M.; MONTEIRO, S. G. Trypanocidal activity of the essential oils in their convencional and nanoemulsion forms: in vitro tests. **Experimental Parasitology**, v.134, n. 3, p.356-61, 2013.

BALUNAS,M.J.; KINGHORN, D. Drug discovery from medicinal plants. **Life Sciences**, v. 78, n.4, p. 431-41, 2005.

BANERJEE, A.; DASGUPTA, N.; DE, B. In vitro study of antioxidant activity of *Syzygium cumini* fruit. **Food Chemistry**, v. 90, p.727-733, 2005.

BAWM,S.; TIWANANTHAGORN,S.; LIN,K.S.; HIROTA,J.; IRIE,T.; HTUN,L.L.; MAW,N.N.; MYAING,T.T.; PHAY,N.; MIYAZAKI,S.; SAKURAI,T.; OKU,Y.; MATSSURA,H.K. Evaluation of Myanmar medicinal plant extracts for antitrypanosomal and cytotoxic activities. **Journal of veterinary Medical Science**, v.72, n.4, p.525-8, 2010.

BEN HASSINE, D.; ABDERRABBA, M.; YVON, Y.; LEBRIHI, A.; MATHIEU, F.; COUDERC, F.; BOUAJILA, J. Chemical composition and in vitro evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of *Eucalyptus gillii* essential oil and extracts. **Molecules**, v.17, n.8, p.9540-58, 2012.

BENDAOU, H.; ROMDHANE, M.; SOUCHARD,J.P.; CAZAUX,S.; BOUAJILA, J. Chemical composition and anticancer and antioxidant activities of *Schinus molle* L. and *Schinus terebinthifolius* Raddi berries essential oils. **Journal of Food Science**, v.75, n.6, p. 466-72, 2010.

BETONI, J.E.C.; MANTOVANI, R.P.; BARBOSA, L.N.; DI STASI, L.C.; JUNIOR, A.F. Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on *Staphylococcus aureus* diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v, 101, n.4, p.387-390, 2006.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Química do processamento de alimentos**. 2 ed. São Paulo: Varela, 1992. 151p.

BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P.A. **Introdução à química de alimentos**. 2 ed. São Paulo: Varela, 1989. 232 p.

BOSCOLO, O.H.; SENNA VALLE, L. Plantas de uso medicinal em Quissamã, Rio de Janeiro, Brasil. **IHERINGIA, Série Botânica**, v. 63, n. 2, p. 263-277, 2008.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate and antioxidant activity. **Lebensmittel – Wissenschaft und -Technologie**, v. 22, n.17, p. 25-30, 1995.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Congresso Nacional. Lei nº 5.991, de 17 de dezembro de 1973. Dispõe sobre o controle sanitário do comércio de drogas, medicamentos, insumos farmacêuticos e correlatos, e dá outras providências. D.O.U. Diário Oficial da União; Poder Legislativo, Brasília, 19 de dezembro de 1973.

BRASIL. Sistema Nacional de Informações Tóxico Farmacológicas Disponível em: <[http://www.fiocruz.br/sinitox\\_novo/cqi/cqilua.exe/sys/start.htm?sid=385](http://www.fiocruz.br/sinitox_novo/cqi/cqilua.exe/sys/start.htm?sid=385)>, Acessado em 19/09/2013.

BRASIL. Resolução SES nº1757, de 18 de fevereiro de 2002. Contra-indica o uso de Plantas Medicinais no Âmbito do Estado do Rio de Janeiro e dá outras providências. **Diário Oficial do Estado do Rio de Janeiro**, 20 fev. 2002.

BRASIL, Farmacopeia dos estados Unidos do Brasil/Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 5.ed. São Paulo: Siqueira; 2010. 546 p.

BRENNAN, O. V.; PAGLIARINI, E. Multivariate analyses of antioxidant power and polyphenolic composition in red wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, n. 3, p. 4841-4844, 2001.

BRITO, A. R. M.; BRITO, A. A. S. Forty years of Brazilian medicinal plant research. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 39, n.1, p. 53-67, 1993.

BRODY, T. M.; LARNER, J.; MINMEMAN, K.P. **Human Pharmacology. Molecular to Clinical**. 3.ed. Missouri: Mosby, 1998.

BRUNTON, L.; BLUMENTHAL, D.; BUXTON, I.; PARKER, K. **Goodman and Gilman's Manual of Pharmacology and Therapeutics**. 1.ed. CIDADE: Editora, 2008. 642 p

BURT, S. Essential oils: theirs antibacterial properties and potencial applications in foods a review. **International Journal of Microbiology**, v. 94, n. 3, p.223-253, 2004.

CALIXTO, J.B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 32, n. 2, p. 179-189, 2000.

CARVALHO, A.C.B.; NUNES, D.S.G.; BARATELLI, T.G.; SHUQAIR, N.S.M.S.A.Q.; NETTO, E.M. Aspectos da legislacao no controle dos medicamentos fitoterapicos. **T&C Amazônia**, v.5, n.11, p.26-32, 2007.

CARVALHO, P.E.R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília, D.F. Embrapa Informação Tecnológica. Colombo: Embrapa Florestas, 2003. 1039p.

CAVALCANTE, P. B. **Frutas comestíveis da Amazônia**. Belém, Pará, Brasil: 1974. 73 p.

CAVALHER MACHADO, S. C.; ROSAS, C. E.; BRITO, F. A.; HERINGE, A. P.; OLIVEIRA, R. R.; KAPLAN, M. A.; FIGUEIREDO, M. R.; HENRIQUES, M. D. The anti-allergic activity of the acetate fraction of *Schinus terebinthifolius* leaves in IgE induced mice paw edema and pleurisy. **International Immunopharmacology**, v.8, n.11, p.1552-60, 2008.

CECHINEL, F.V.; YUNES,R.A. Estratégias para obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. **Química Nova**, v.21, n.1, p. 99-105, 1998.

CELIK TAS, O.Y.; KOCABAS, E.E.H.; BEDIR, E.; SUKAN, F.E.; OZEK, T.O.; BASER, K. H.C. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. **Food Chemistry**, v. 100, n. 2, p. 553-559, 2005.

CHOVANOVÁ, R.; MIKULÁŠOVÁ, M.; VAVERKOVÁ, S. In vitro antibacterial and antibiotic resistance modifying effect of bioactive plant extracts on methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis*. **International Journal of Microbiology**, v.13, n.7, p.176-184. 2013.

CHUNG, K.; WEI, C.; JOHNSON, M.G. Are tannins a double-edged sword in biology and health. **Trends in Food Science and Technology**, v.9, n.4, p.168-175, 1998.

CIAPETTI, G.; GRANCHI, D.; VERRI, E.; SAVARINO, L.; CAVEDAGNA, D.; PIZZO FERRATO, A. Application of a combination of neutral red and amido black staining for rapid, reliable cytotoxicity testing of biomaterials. **Biomaterials**, v. 17, n. 14, p. 1259-1264, 1996.

CLSI - CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing**. 5. Informational supplement. CLSI document M100-S15. Wayne (PA), 2005.

CONSOLINI, A.E.; BALDINI, O.A.; AMAT, A.G. Pharmacological basis for the empirical use of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) as antihypertensive. **Journal of Ethnopharmacology**, v.66, n.1, p.33-39, 1999.

CORADIN, L.; SIMINSKI, A.; REIS, A. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro- Região Sul**. Brasília: MMA, 2011, 934p.

CRUZ-CARRILLO, A.; RODRÍGUEZ, N. N.; RODRÍGUEZ, C. E. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de los extractos de *Bidens pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* y *Silybum marianum*. **Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica**, v.13, n. 2, p. 117-124, 2010.

CUI, K.; LUO, X. L.; XU, K. Y.; MURTHY, M. R. V. Role of oxidative stress in neurodegeneration: Recent developments in assay methods for oxidative stress and nutraceutical antioxidants. **Progress in Neuro Psicofarmacologia & Biological Psychiatry**, v. 28, n.12, p. 771-799, 2004.

D'ARRIGO, M.; GINESTRA, G.; MANDALARI, G.; FURNERI, P. M.; BISIGNANO, G. Synergism and postantibiotic effect of tobramycin and *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Phytomedicin**, 17, n.5, p.317-322, 2010.

DE SMET, P.A.G.M. Health risks of herbal remedies: an update. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v. 76, n.8, p. 1-17, 2004.

DEGÁSPARI, C.H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, v.5, n.1, p.33-40, 2004.

DEGÁSPARI, C.H.; WASZCZYNSKYJ, N.; PRADO, M.R.M. Atividade antimicrobiana de *Schinus terebenthifolius* Raddi. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 3, p. 617-622, 2005.

DESOTI, V.C.; MALDANER, C.L.; CARLETTO, M.S.; HEINZ, A. A.; COELHO, M.S.; PIATI, D; TIUMAN, T.S. Triagem fitoquímica e avaliação das atividades antimicrobiana e citotóxica de plantas medicinais nativas da região oeste do estado do Paraná. **Arquivos de Ciências da Saúde**, v.15, n.1, p. 3-13, 2011.

DI STASI, L.C., A.R.M.S. BRITO, E.M. BACCHI, L.C. MING, M.R. FURLAN, M.A.P. SAVASTANO, M.C. DE AMOROZO, M.S. REIS & P.H. FERRI. **Plantas medicinais: arte e ciência, um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: UNESP , 1996. 230 p.

DUARTE, M.C.T. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. Construindo a história dos produtos naturais. **Multiciência**, v.7, n.4, p.41-44, 2006.

DUFFY, C.F.; POWER, R.F. Antioxidant and antimicrobial properties of some chinese plants extracts. **International Journal of Antimicrobial**, v.17, n. 8, p. 527-529, 2001.

EIDENBERGER, T.; SELG, M.; KRENNHUBER, K. Inhibition of dipeptidyl peptidase activity by flavonol glycosides of guava (*Psidium guajava* L.): a key to the beneficial effects of guava in type II diabetes mellitus. **Fitoterapia**, v.89, n. 17, p.74-79, 2013.

EINBOND, L.S.; REYNERTSON, K.A.; LUO, X.D.; BASILE, M.J.; KENNELLY, E.J. Anthocyanin antioxidants from edible fruits. **Food chemistry**, v.84,n.18, p.23-28, 2004.

ELAISSI, A.; ROUIS, Z.; SALEM, N. A.; MABROUK, S.; BENSALAM, Y.; SALAH, K. B.; AOUNI, M.; FARHAT, F.; CHEMLI, R.; HARZALLAH-SKHIRI, F.; KHOUJA, M. L. Chemical composition of 8 eucalyptus species' essential oils and the evaluation of their antibacterial, antifungal and antiviral activities. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 28, n.12, p. 12:81, 2012.

ESQUENAZI, D.; WIGG, M. D.; MIRANDA, M. M. F. S.; RODRIGUES, H. M.; TOSTES, J. B. F.; ROZENTAL, S.; SILVA, A. J. R.; ALVIANO, C. S. Antimicrobial and antiviral activities of polyphenolics from *Cocos nucifera* Linn. (Palmae) husk fiber extract. **Research in Microbiology**, v.153, n. 10, p. 647-652, 2002.

ESTANISLAU, A.A.; BARROS, F.A.S.; PEÑA, A.P.; SANTOS, S.C.; FERRI, P.H.; PAULA, J.R. Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de cinco espécies de Eucalyptus cultivadas em Goiás. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.11, n.2, p.95-100, 2001.

ESTREBAUER, H.; ZOLLNER, H.; SHAUR, R. J. **Membrane Lipid Peroxidation**. CRC Press: Boca Raton, 1990, 143 p.

FARAL-TELLO, P.; MIRAZO, S.; DUTRA, C.; PÉREZ, A.; GEIS-ASTEGGIANTE, L.; FRABASILE, S.; KONCKE, E.; DAVYT, D.; CAVALLARO, L.; HEINZEN, H.; ARBIZA, J. Cytotoxic, virucidal, and antiviral activity of South American plant and algae extracts. **Scientific World Journal**, v.17, n.8, p. 1-5, 2012.

FARIA, A. F.; MARQUES, M. C.; MERCADANTE, A. Z. Identification of bioactive compounds from jambolão (*Syzygium cumini*) and antioxidant capacity evaluation in different pH conditions. **Food Chemistry**, v. 126, n.4, p.32-37, 2011.

FARNSWORTH, N. R. Relative safety of herbal medicines. **Herbalgram**, v.29, n.12, p.36-39, 1993.

FENNEMA, O.R. **Química de los alimentos**. 2 ed. Zaragoza.: Acribia, 1993.

FERNANDES, M.H.V.; SILVA, D.S.; CASTRO, C.C.; CORRÊA, R.A.; VARGAS, G.D.; FISCHER, G.; MOTTA, A.S.; HÜBNER, S.O. Avaliação da citotoxicidade do peptídeo antimicrobiano p34. **Science and Animal Health**, v.1, n.1, p. 02-10, 2013.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistemas de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, n.1, p. 61-68, 1997.

FERREIRA, S.H., BARATA, L.E.S.; SALLES FILHO, S.L.M.; QUEIROZ, S.R.R. Medicamentos a partir de plantas medicinais no Brasil. Academia Brasileira de Ciências, São Paulo, 1998.

FLEIG, M.; KLEIN, R.M. **Anacardiaceas**. In: REITZ, R. (ed). Flora ilustrada catarinense. Itajaí. Herbário Barbosa Rodrigues (HBR), 1989. p.40-49.

FONSECA, A.L, **Interações medicamentosas**. Rio de Janeiro: EPUC, 1994. 440 p.

FRANCO, I.J.; FONTANA, V.L. **Ervas e Plantas: a medicina dos simples**. 9.ed. Erechim, 2004. 208 p.

FREIBURGHHAUS, F.; KAMINSKY, R.; NKUNYA, M. H. H.; BRUN, R. Evaluation of african medicinal plants for their in vitro trypanocidal activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 55, n. 14, p. 1-11, 1996.

FREITAS, M. F. L.; PINHEIRO, J. W.; STAMFORD, T. L. M.; RABELO, S. S. A.; SILVA, D. R.; SILVEIRA, F.V.M.; SANTOS, F.G.B.; SENA, M. J.; MOTA, R. A. Perfil de sensibilidade antimicrobiana in vitro de *Staphylococcus coagulase* positivos isolados de leite de vacas com mastite no agreste do estado de Pernambuco. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.72, n.2, p.171-7, 2002.

FUGH-BERNMAN, A.; ERNST, E. Herb-drug interactions: review and assessment of report reability. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v.52, n.5, p. 587-595, 2001.

FUMAGALI, E.; GONÇALVES, R. A. C.; MACHADO, M. F. P. S.; VIDOTI, G. J.; OLIVEIRA, A. J. B. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: O exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 4, p. 627-641, 2008.

GALLO, M.; SARKAR, M.A.U. W.; PIETRZAK, K.; COMAS, B.; SMITH, M.; JAEGER, T.V.; EINARSON, A.R.N.; KOREN, G. Pregnancy outcome following gestational exposure to Echinacea: a prospective controlled study. **Archives of Internal Medicine**, v.160, n.20, p. 3141-3143, 2000.

GHAEMI, A.; SOLEIMANJAH, H.; MOGAHDDAM, M. F.; OMIDBAIGI, R.; POURBAIG, M. V. M. Antiviral activity of root extracts from *Tagetes minuta* against Herpes simplex virus (HSV-1). **Iranian Journal of Research**, v.3, n.2, p. 72-73, 2004.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GONÇALVES, C. L.; SCHIAVON, D. B. A.; MOTA, F. V.; FACCIN, A.; SCHUBERT, R. N.; SCHIEDECK, G.; SCHUCH, L. F. D. Actividad antibacteriana de los extractos de *Cymbopogon citratus*, *Elionurus* sp. y *Tagetes minuta* contra bacterias que causan mastitis. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 18, n.3, p.487-494, 2013.

GONZÁLEZ-TRUJANO, M. E.; PEÑA, E. I.; MARTÍNEZ, A. L.; MORENO, J.; GUEVARA-FEFER, P.; DÉCIGA-CAMPOS, M.; LÓPEZ-MUÑOZ, F. J. Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 3, p. 476-482, 2007.

GONZALÉZ, E.R. **Transformação genética de *Eucalyptus grandis* e do híbrido *E. grandis* x *E. urophylla* via *Agrobacterium***. 2002. 107 f.Tese (Doutorado ) Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

GOYAL, P. K.; VERMA, P.; SHARMA, P.; PARMAR, J.; AGARWAL, A. Evaluation of anti-cancer and anti-oxidative potential of *Syzygium Cumini* against [a ]pyrene (BaP) induced gastric carcinogenesis in mice. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v.11, n.3, p.753-758, 2010.

GRAHAME-SMITH, D.G.; ARONSON, J.K. **Oxford text book of clinical pharmacology and drug therapy**. Edição. Oxford, OxfordUniversity Press: Editora, 1988.

GRIFFIN, S. G.; WYLLIE, S. G.; MARKHAM, J. L.; LEACH, D. N. The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. **Flavour and Fragrance Journal**, v.14, n.5, p. 322-332, 1999.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: Importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010.

GUERRA-BOONE, L.; ALVAREZ-ROMÁN, R.; SALAZAR-ARANDA, R.; TORRES CIRIO, A.; RIVASGALINDO, V. M.; WAKSMAN, T. N.; GONZÁLEZ, G. M.; PÉREZ LÓPEZ, L. A. Chemical compositions and antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils from *Magnolia grandiflora*, *Chrysactinia mexicana*, and *Schinus molle* found in northeast Mexico. **Natural Product Communications**, v.8, n.1, p.135-138. 2013.

HANDELMAN, G. J. The evolving role of carotenoids in human biochemistry. **Nutrition**, v.17, n. 5, p.818-822, 2001.

HANSTEN, P. D.; HORN, J. R. **Drug inter actions monographs**.Vancouver, Applied Therapeutics Inc, 1996.

HEMAISWARYA, S.; KRUTHIVENTI, A. K.; DOBLE, M. Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. **Phytomedicine**, v.15, n.8, p.639-652, 2008.

HERNÁNDEZ, A. M.; PRIETO GONZÁLES, E. A. Plantas que contienen polifenoles. **Revista Cubana de Investigaciones Biomedica**, v.18, n. 1, p. 12-14, 1999.

HRAS, A. R.; HADOLIN, M.; KNEZ, Z.; BAUMAN, D. Comparison of antioxidative and synergistic effects pf rosemary extract with alfa-tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. **Food Chemistry**, v. 71, n. 2, p. 229-233, 2000.



HSU, P.C.; GUO, Y.L. Antioxidant nutrients and lead toxicity. **Toxicology**, v.180, n.13, p. 33-44.2002.

ICKES, G. R.; FONG, H. H.; SCHIFF, P. L.; PERDUE, R. E.; FARNSWORTH, N. R. . Antitumor activity and preliminary phytochemical examination of *Tagetes minuta* (Compositae). **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.62 , n.6, p.1009-1011, 1973.

ILHA, S. M.; MIGLIATO, K. F.; VELLOSA, J. C. R.; SACRAMENTO, L. V. S.; PIETRO, R. C. R. L.; ISAAC, V. L. B.; BRUNETTI, I. L.; CORRÊA, M. A.; SALGADO, H. R. N. Estudo fitoquímico de goiaba (*Psidium guajava* L.) com potencial antioxidante para o desenvolvimento de formulação fitocosmética. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.3, p. 387-393, 2008.

JANSEN, A. M.; CHEFFER, J. J. C.; SVENDSEN, A. B. Antimicrobial activity of essential oils: a 1976-1986 literature review. Aspects of test methods. **Planta Medica**, v. 53, n. 5, p. 395-398, 1987.

KATZUNG, B. **Farmacologia Básica e Clínica** .10. ed. Brasil: McGraw Hill, 2007.

KILKUSKIE, R. E.; KASHIWADA, Y.; NONAKA, G.; NISHIOKA, I.; BODNER, A.; CHENG, Y.; LEE, K. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v.2, n.11, p. 1529-1531, 1992.

KING, A. R.D.; YOUNG, G. E. D. Characteristics and occurrence of Phenolic phytochemicals. **Journal of American Dietetic Association**, v. 99, n. 2, p. 213 218, 1999.

KISSMANN, K. G.; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**. Ludwigshaven : BASF,1992.

KO, R. J. Adulterants in Asian patent medicines. **New England Journal of Medicine**, v 339-847, 1998.

KO, R.J. Causes, epidemiology, and clinical evaluation of suspected herbal poisoning. **Clinical Toxicology**, v.37, n.6, p.697-708, 1999.

KOBA, K.; MATSOUKA, A.; OSADA, K.; HUANG,Y. Effect of loquat (*Eriobotrya japonica*) extracts on LDL oxidation. **Food Chemistry**, v.104, n.1, p.308-316, 2007.

KÖHLER, T.; PECHÉRE, J. C.; PLÉSIAT, P. Bacterial antibiotic efflux systems of medical importance. **Cellular and Molecular Life Science**, v. 56, n.14, p. 771-778, 1999.

KORBES, V. C. **Plantas medicinais**. 48. ed. Francisco Beltrão: Associação de Estudos, 1995. 188 p.

KOURY, J. C.; DONANGELO, C.M. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. **Revista de Nutrição [online]**, v.16, n.4, p. 433-44, 2003.

KRINSKY, I. N. The biological properties of carotenoids. **Pure and Applied Chemistry**, v. 66, n, 21, p. 1003-1010, 1994.

KUETE, V.; WIENCH, B.; ALSAID, M. S.; ALYAHYA, M. A.; FANKAM, A. G.; SHAHAT, A. A.; EFFERTH, T. Cytotoxicity, mode of action and antibacterial activities of selected Saudi Arabian medicinal plants. **BMC Complementary & Alternative Medicine**, v.13, n. 7, p. 354- 365, 2013.

LAGO, J. **Mecanismos de Resistência e Seleção de Antibióticos**. Lisboa:Jornadas bioMérieux, 2011. 158 p.

LANINI, J.; DUARTE-ALMEIDA, J. M.; NAPPO, S.; CARLINI, E. A. “O que vêm da terra não faz mal” - relatos de problemas relacionados ao uso de plantas medicinais por raizeiros de Diadema/SP. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, n.1, p.121-129, 2009.

LAPA, A.J., SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M.T.R.; GODINHO, R.O.; and NOGUEIRA, T.C.M.L. **Farmacologia e Toxicologia de produtos naturais**. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R.. Farmacognosia: da planta ao medicamento 5.ed. Porto Alegre / Florianópolis: Universidade/UFRGS-UFSC, 2004. 247-262p.

LEITE, H. P.; SARNI, R.S. Radicais livres, antioxidantes e nutrição. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v.18, n.2, p.60-65, 2003.

LENZI, M.; ORTH, A. I. Fenologia reprodutiva, morfologia e biologia floral de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae), em restinga da Ilha de Santa Catarina, Brasil. **Biotemas**, v. 17, n. 2, p. 67-89, 2004.

MARSHALL, J. R. **Manual de Laboratório Clínico de Microbiologia**. 1.ed. São Paulo: Santos, 1995.132 p.

LIMA, I. O.; OLIVEIRA, R. A. G.; LIMA, E. O.; FARIAS, N. M. P.; SOUZA, E. L. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.2, p.197-201, 2006.

LIMA, L. B.; VASCONCELOS, C. F.; MARANHÃO, H. M.; LEITE, V. R.; FERREIRA, P. A.; ANDRADE, B. A.; ARAÚJO, E. L.; XAVIER, H. S.; LAFAYETTE, S. S.; WANDERLEY, A. G. Acute and subacute toxicity of *Schinus terebinthifolius* bark extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v.126, n.3, p.468-473, 2009.

LIMA, S. C. S.; ARRUDA, G. O.; RENOVATO, R. D.; ALVARENGA, M. R. M. Representações e usos de plantas medicinais por homens idosos. **Revista Latino Americana de Enfermagem**, v.20, n.4, p. 08-16, 2012.

LOGUERCIO, A. P.; BATTISTIN, A.; VARGAS, A. C.; HENZEL, A.; WITT, N. M. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini*) (L.) Skells. **Ciência Rural**, v. 35, n.2, p. 371-376, 2005.

LÓPEZ, S. B.; LÓPEZ, M. L.; ARAGÓN, L. M.; TERESCHUK, M. L.; SLANIS, A. C.; FEREN, G. E.; ZYGADLO, J. A.; TAPIA, A. A. Composition and anti-insect activity of essential oils from *Tagetes* L. species (Asteraceae, *Helenieae*) on *Ceratitis capitata* Wiedemann and *Triatoma infestans* Klug. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.14, n. 10, p.25-59, 2011.

LORENZI, H., MATOS, F.J.A. **Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. São Paulo:Instituto Plantarum, Nova Odessa, 2002. 344p.

LORENZI, H.. **Árvores brasileiras (manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil)**. Cidade: Nova Odessa, Instituto Plantarum, 1992.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil – terrestres aquáticas, parasitas e tóxicas**. 3.ed. São Paulo:Instituto Plantarum, Nova Odessa, 2000. 640p.

LUCARINI, R.; BERNARDES, W. A.; FERREIRA, D. S.; TOZATTI, M. G.; FURTADO, R.; BASTOS, J. K.; PAULETTI, P. M.; JANUÁRIO, A. H.; SILVA, M. L.; CUNHA, W. R. In vivo analgesic and anti-inflammatory activities of *Rosmarinus officinalis* aqueous extracts, rosmarinic acid and its acetyl ester derivative. **Pharmaceutical Biology**, v. 51, n.9, p.1087-90., 2013.

MACIEL, M. A.; PINTO, A. C.; VEIGA J. R. V. F.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. **Plantas Medicinais: A Necessidade De Estudos Multidisciplinares**. **Quimica Nova**, v. 25, n. 3, p.429-438, 2002.

MANICA I.; ICUMA, I. M.; JUNQUEIRA, N. T. V.; SALVADOR, J. O.; MOREIRA, A.; MALAVOLTA, E. F. **Fruticultura tropical: Goiaba**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2000. 374 p.

MARCOMINI, A. M.; ALVES, L. F. A.; BONINI, A. K.; MERTZ, N. R.; SANTOS, J.C. Atividade inseticida de extratos vegetais e do óleo de nim sobre adultos de *Alphitobius diaperinus panzer* (Coleoptera, *Tenebrionidae*). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.76, n.3, p.409-416, 2009.

MARLIÉRE, L. D. P.; RIBEIRO, A. Q.; BRANDÃO, M. G. L.; KLEIN, C. H.; ACURCIO, F. A. A. Utilização de fitoterápicos por idosos: resultados de um inquérito domiciliar em Belo Horizonte (MG), Brasil. **Revsita Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n.4, p. 754-760, 2008.

MARTINAZZO, A. P. **Secagem, armazenamento e qualidade de folhas de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf**. 2006. 156 f. Tese (Doutorado) -Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2006.

MARTINS, E.R.; CASTRO, D.M.; CATELLANI, D.C.; DIAS, J.E.. **Plantas Medicinais**. Viçosa: Imprensa Universitária, 2000, 220 p.

MATOS, F. J. A.; SOUSA, M. P.; MATOS, M. E. O.; MACHADO, M. I. L.; CRAVEIRO, A. A. Constituintes químicos ativos e propriedades biológicas de plantas medicinais Brasileiras. 2.ed. Fortaleza: Editora UFC, 2004, 448p.

MATOS, F.J. **Farmácias vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades**. 2.ed. Fortaleza: EUFC. 1994.

MCCORD, J. M. The evolution of free radicals and oxidative stress. **American Journal of Medicine**, v.108, n.14, p. 652-659, 2000.

MEDINA, J. C. Goiaba 2.ed. Campinas: ITAL, 1988 p.1-120.

MELLO, J. P. C.; SANTOS, S.C. **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**; In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENCKEL, E. P. 3.ed. Porto Alegre: UFSC, 2001. 561 p.

MELLO, J. P. C.; SANTOS, S. C. Taninos. In: Simões, C. M. O. et al., Em **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFSC, 2004.

MELLO, E. A.; GUERRA, N. B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.36, n.11, p.1-11, 2002.

MENGUE, S. S.; MENTZ, L. A.; SCHENCKEL, E. P. Uso de plantas medicinais na gravidez. In: SANSEVERINO, M. T. V.; SPRITZER, D. T.; SCHÜLER-FACINI, L. (org). **Manual de teratogênese**. Porto Alegre: UFRGS, 2001. 410 p.

MICHELIN, D. C.; MORESCHI, P. E.; LIMA, A. C.; NASCIMENTO, G. G. F.; PAGANELLI, M. O.; CHAUD, M. V. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, n.4, p. 316-320, 2005.

MING, L. C. Coleta de plantas medicinais. In: STASI, D. I. L. (Org.). **Plantas medicinais: arte e ciências – um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: UNESP, 1995.

MING, L. C.; GAUDÊNCIO, P.; SANTOS, V. P. **Plantas Medicinais: Uso Popular na Reserva Extrativista "Chico Mendes"** - Acre. Botucatu: CEPLAN/UNESP, 1997.

MOHAMED, A.A.; ALI, S. I.; EL-BAZ, F. K. Antioxidant and antibacterial activities of crude extracts and essential oils of *Syzygium cumini* leaves. **PLoS One**, v. .8, n.4, p. 38-46, 2013.

MONTANARI, R. M.; BARBOSA, L.C.; DEMUNER, A. J.; SILVA, C.J.; ANDRADE, N. J.; ISMAIL, F. M.; BARBOSA, M. C. Exposure to Anacardiaceae volatile oils and their constituents induces lipid peroxidation within food-borne bacteria cells. **Molecules**, v.17, n.8, p. 9728-9740, 2012.

MOREIRA, A. V. B.; MANCINI-FILHO, J. Influência dos compostos fenólicos de especiarias sobre a lipoperoxidação e o perfil lipídico de ratos. **Revista de Nutrição**, v.17, n.4, p.411-420, 2004.

MORTON, J. F. Brazilian pepper — Its impact on people, animals and environment. **Economic Botany**, v.32, n.4, p.353- 359, 1978.

MOTA, F. M.; GONÇALVES, C. L.; SCHUCH, L. F. D.; COIMBRA, H. S.; HARTWIG, C. Comparación de distintas extracciones hidroalcohólicas de plantas con indicativo etnográfico antiséptico/desinfectante. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v.16, n.3, p. 236-246. 2011.

MOTA, F. V.; SCHUCH, L. F. D.; GONÇALVES, C. L.; FACCIN, A.; SCHIAVON, D. B. A.; BOHM, B. C.; LESSA, L. F. Actividad antibacteriana de los extractos de *Syzygium cumini* (L.) Skeels (jambolán) frente a los microorganismos asociados a la mastitis bovina. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v.18, n.3, p.495-501, 2013.

MUELLER - HARVEY, I. Analysis of hydrolysable tannins. **Animal Feed and Technology**, v. 91, n.14, p. 3-20, 2001.

NASCIMENTO, A. F.; CAMARA, C. A.; MORAES, M. M.; RAMOS, C. S. Essential oil composition and acaricidal activity of *Schinus terebinthifolius* from Atlantic Forest of Pernambuco, Brazil against *Tetranychus urticae*. **Natural Product Communications**, v.7, n.1, p.129-32, 2012.

NEU, H., GOOTZ, T. (1996). **Antimicrobial Chemotherapy**. 4.ed. Galveston,1996.

NCCLS - National Committee for Clinical Laboratory Standards. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**; Approved Standard—Sixth Edition. M7-A6, v.23, n.1, 58 p. 2003

NIERO, R.; MALHEIROS, A.; BITTENCOURT, C. M. S.; BIAVATTI, M. W.; LEITE, S. N.; CECHINEL FILHO, V. Aspectos químicos e biológicos de plantas medicinais e considerações sobre fitoterápicos. In: Bresolin TMB, Cechinel Filho V. (org.) *Ciências Farmacêuticas: contribuição ao desenvolvimento de novos fármacos e medicamentos*. Itajaí: Ed. Univali, 2003. p.10-56.

NIKAIDO, H. Outer membrane barrier as a mechanism of antimicrobial resistance. **Antimicrobial Agents Chemoterapy**, v.33, n.8, p. 1831-1836, 1989.

OGA, S.; BASILE, AC. **Medicamentos e suas interações**.São Paulo: Atheneu, 1994.

OGA,S.; BASILE,A.C.; CARVALHO,F.M. **Guia de interações medicamentosas**. 7.ed., São Paulo: Atheneu, 2002.

OMS/Organización mundial de la salud. Pautas para la evaluación de Medicamentos Herbarios. Ginebra, 2002.

OH, M. S.; YANG, J. Y.; KIM, M. G.; LEE, H. S. Acaricidal activities of  $\beta$ -caryophyllene oxide and structural analogues derived from *Psidium cattleianum* oil against house dust mites. **Pest Management Science**, v.7, n.12, p.31-38, 2013.

OLIVEIRA, R. A. G.; LIMA, E. O.; VIEIRA, W. L.; FREIRE, K. R. L.; TRAJANO, V. N.; LIMA, I. O.; SOUZA, E. L.; TOLEDO, M. S.; SILVA FILHO, R. N. Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.14, p. 77-82, 2006.

OLIVEIRA, J. T. S.; SOUZA, L. C.; LUCIA, R. M. D.; JUNIOR, W. P. S. Influencia dos extrativos na resistência ao apodrecimento de seis espécies de madeira. **Revista Árvore**, v.29, n.5, p. 819-826, 2005.

OLSON, J. A. Carotenoids and human health. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 49, n.13, p. 7-11, 1999.

OOMAH, B. D.; CARDADOR-MARTINEZ, A.; LOARCA-PINÃ, G. Phenolics and antioxidative activity in common beans (*Phaseolus vulgaris* L) Journal of the Science of Food and Agriculture, v.85, n.6, p.935-942, 2005.

OSTROSKY, E. A.; MIZUMOTO, M. K. M.; LIMA, M. E. L.; KANEKO, T. M.; NISHIKAWA, S. O.; FREITAS, B. R. F. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.2, p. 301-307, 2008.

PACHÚ, C. O. **Novas Lignanas isoladas da Ocotea duckei Vattimo e atividade Psicodepressora da iangambina**.1994. 137 f. Dissertação (Mestrado ) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa,1994.

PALOZZA, P.; KRINSKY, N. I. Antioxidant effects of carotenoids in vivo and in vitro: An overview. **Methods in Enzymology**, v.213, n.11, p.403-420, 1992.

PANKEY, G., SABATH, L.. Clinical relevance of bacteriostatic versus bactericidal mechanisms of action in the treatment of Gram positives bacterial infections. **Oxford Journals**, v.38, n.14, p.864-865, 2013.

PATRICK, G. L.; **An Introduction to Medicinal Chemistry**. Oxford University Press: New York, 2005; PATRICK, G.L. **An Introduction to Medicinal Chemistry**, Oxford University Press: New York, 2005.

PEREIRA, A. C.; CASTRO, D. L. Prospecção fitoquímica e potencial citotóxico de *Unxia kubitzi* H. Rob. (Asteraceae-Heliantheae). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p. 231- 233, 2007.

PINTO,T.J.A.; KANEKO, T.M.; OHARA, M.T. **Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos**. 2.ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2003. 325 p.

POLOVKA, M.; BREZOVÁ, V.; STASKO, A. Antioxidant proprties of tea investigated by EPR spectroscopy. **Biophysical Chemistry**, v. 106, n. 22, p. 39-56, 2003.

PRESTES, L. S.; SCHUCH, L. F. D.; ALVES, G. H.; SANTOS, M. A. Z.; RODRIGUES, M. R. A.; MEIRELES, M. C. A. Evaluación de la actividad bactericida

de aceites esenciales de hojas de guayabo, pitango y arazá. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v.16, n.4, p.324-330, 2011.

RATES, S. M. K. Promoção do uso racional de fitoterápicos: uma abordagem no ensino de Farmacognosia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 11, n.2, p. 57-69, 2001.

REED, L. J.; MÜENCH, H. A simple method of estimating fifty percent end points. **American Journal of Epidemiology**, v. 27, n. 3, p. 493-497, 1938.

REITZ, P. R.; KLEIN, R. M.; REIS, A. **Flora Catarinense (Psidium)**. Ed.Sellowia, 1983. 161p.

REITZ, R.; KLEIN, R. M.; REIS, A. **Projeto Madeiras do Rio Grande do Sul. Governo do Estado do Rio Grande do Sul**, didade: editora, 1988. 528 p.

RIOS, J.L.; RECIO, M. C. Medicinal plants and antimicrobial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v.100, n.1, p.80-84, 2005.

RIOS, A. O.; ANTUNES, L. M. G.; BIANCHI, M. I. P. Proteção de carotenóides contra radicais livres gerados no tratamento de câncer com cisplatina. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 20, n. 2, p 12-17, 2009.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Pharmacognosy and pharmacobiotechnology**. 9.ed. Baltimore: Willians & Wilkins, 1996. 337 p.

RODRIGUES, C. J. **Mecanismos de resistência das plantas aos agentes patogénicos**. Lisboa: Junta de Investigações Científicas do Ultramar, 1980. 23p.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington: ILSI Press, 2001. 64p.

RODRIGUES, K. A.; AMORIM, L. V.; OLIVEIRA, J. M.; DIAS, C. N.; MORAES, D. F.; ANDRADE, E. H.; MAIA, J. G.; CARNEIRO, S. M.; CARVALHO, F. A. *Eugenia uniflora* L.: Essential oil as a potential anti-leishmania agent: effects on *Leishmania amazonensis* and possible mechanisms of action. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v.2, n.8, p. 41-47, 2013.

ROGERO, S. O.; LUGÃO, A. B.; IKEDA, T. I.; CRUZ, A. S. Teste in vitro de Citotoxicidade: Estudo Comparativo entre Duas Metodologias. **Materials Research**, v. 6, n. 3, p.317-320, 2003.

ROJAS, A.; HERNANDEZ, L.; PEREDA-MIRANDA, R.; MATA, R. Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 35, n.11, p. 275-283, 1992.

ROSS, J. A.; KASUM, C. M. Dietary Flavonoids: Bioavailability, Metabolic Effects, and Safety. **Annual Review of Nutrition**, v. 22, n.7, p. 19–34, 2002.

RUFFA, M. J.; FERRARO, G.; WAGNER, M. L.; CALCAGNO, M. L.; CAMPOS, R. H.; CAVALLARO, L. Cytotoxic effect of Argentine medicinal plant extracts on human hepatocellular carcinoma cell line. **Journal of Ethnopharmacology**, v.79, n. 21, p.335-339, 2002.

RUFINO, M. S. M. **Propriedades funcionais de frutas tropicais brasileiras não tradicionais**. 2008. 263 f. Tese (Tese) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2008.

RYU, N. H.; PARQUE, K. R.; KIM, S. M.; YUN, H. M.; NAM, D.; LEE, S. G.; JANG, H. J.; KIM, S. H.; SHIM, B. S.; CHOI, S. H.; MOSADDIK, A.; CHO, S. K.; AHN, K. S. A hexane fraction of guava Leaves (*Psidium guajava* L.) induces anticancer activity by suppressing AKT/mammalian target of rapamycin/ribosomal p70 S6 kinase in human prostate cancer cells. **Journal of Medicinal Food**, v.15, n.3, p.231-41, 2012.

SÁ, A. P. C. S. **Potencial antioxidante e aspectos químicos e físicos das frações comestíveis (polpa e cascas) e sementes de Jamelão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels)**. 2008. 56 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

SALAH, N.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G.; TIJBURG, L.; BOLWELL, G. P.; RICE-EVANS, C. Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.322, n.2, p. 339-346, 1995.

SALVADOR, M.; HENRIQUES, J. A. P. **Radicais livres e a resposta celular ao estresse oxidativo**. Canoas:ULBRA, 2004. 189 p.

SÁNCHEZ-MORENO, C. Review: Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems. **Food Science and Technology International**, v. 20, n. 2, p. 121-137, 2014.

SARTORI, M. R. K.; PRETTO, J. B.; CRUZ, A. B.; BRESCIANI, L. F. V.; YUNES, R. A.; SORTINO, M.; ZACHINO, S. A.; CECHINEL-FILHO, V. Antifungal activity of fractions and two pure compounds of flowers from *Wedelia paludosa* (*Acmela brasiliensis*) (ASTERACEAE). **Pharmazie**, v. 58, n. 8, p. 567-569, 2003.

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry** v.30, n, 23, p.3875-3883, 1991.

SCHAECHTER, M.; ENGLEBERG, N. C.; EISENSTEIN, B. I.; MEDOFF, G. **Microbiologia: Mecanismos das doenças infecciosas**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002, 642p.

SCHIEDECK, G. **Aproveitamento da biodiversidade regional de plantas bioativas para a sustentabilidade dos agricultores de base ecológica na região sul do RS**. Pelotas: EMBRAPA clima Temperado, 2006. 51f.

SCHUCH, L. F. D.; WIEST, J. M.; GARCIA, E. N.; PRESTES, L. S.; SCHRAMM, R. C.; COIMBRA, H. S.; MEIRELES, M. C. A. Atividade antifúngica de extratos de



plantas utilizados por agricultores familiares como antimicrobiano. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 36, n.3, p. 267-271, 2008a.

SCHUCH, L. F. D.; WIEST, J. M.; COIMBRA, H. S.; PRESTES, L.S.; TONI, L.; LEMOS, J. S. Cinética da atividade antibacteriana in vitro de extratos naturais frente a micro-organismos relacionados à mastite bovina. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n.14, p. 161-169, 2008b.

SECOLI, R. S. Interações Medicamentosas: Fundamentos para a Prática Clínica da Enfermagem. **Revista da Escola de Enfermagem**, v. 25, n. 1, p.28-34, 2001.

SEHN, R.; CAMARGO, A. L.; HEINECK, I.; FERREIRA, M. B. C. Interações medicamentosas potenciais em prescrições de pacientes hospitalizados. **Infarma**, v. 15, n. 4, p. 9-10, 2003.

SERAFINO, A.; VALLEBONA, P. S.; ANDREOLA, F.; ZONFRILLO, M.; MERCURI, L.; FEDERICI, M.; RASI, G.; GARACI, E.; PIERIMARCHI, P. Stimulatory effect of *Eucalyptus* essential oil on innate cell-mediated immune response. **BMC Immunology**, v.9, n.17, p.241-250, 2008.

SIANI, A. C.; SOUZA, M. C.; HENRIQUES, M. G.; RAMOS, M. F. Anti-inflammatory activity of essential oils from *Syzygium cumini* and *Psidium guajava*. **Pharmaceutical Biology**, v.51, n.7, p.881-887, 2013.

SIES, H. Strategies of antioxidant defence: review. **European Journal of Biochemistry**, v.215, n.2, p.213-219, 1993.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A.S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

SILVA, M. V.; RITTER. Plantas Medicinais e tóxicas da Reserva Biológica do Lami, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. **Iheringia, Revista de Botânica**, v.57, n.11, p. 61-73. 2002.

SILVA, J.; ABEBE, W.; SOUSA, S. M.; DUARTE, V. G.; MACHADO, M. I.; MATOS, F. J. Analgesic and anti-inflammatory effects of essential oils of *Eucalyptus*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.89, n.2, p.277-83. 2003.

SIMÕES, C. M. O.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P.; IRGANG, B. R.; STEHMANN, J. R.. **Plantas da Medicina Popular do Rio Grande do Sul**. 5.ed. Porto Alegre: UFRGS, 1998, 174 p

SIRIWOHARN, T.; WROLSTAD, R. E.; FINN, C. E.; PERERIRA, C. B. Influence of cultivar, maturity, and sampling on Blackberry (*Rubus L. Hybrids*) anthocyanins, polyphenolics, and antioxidant properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, n. 24, p.8021-8030, 2004.

SIXEL, P. J.; PECINALLI, N. R. Seleção de plantas para pesquisa farmacológica. **Infarma**, v.15, n. 3, p. 70-73, 2002.

SKIDMORE-ROTH, L. **Nursing Drug Reference**. St.Louis: Mosby, 1997.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista Nutrição**, v. 15, n.1, p. 71-81, 2002.

STAHL, W.; ALE-AGHA, N.; POLIDORI, M. C. Non-antioxidant properties of carotenoids. **Biological Chemistry**, v. 383, n. 3, p. 553-558, 2002.

STARLING, C. E. F.; BISCOTTO, C. R. Associação Antimicrobiana. In: PEDROSA, E. R. P.; ROCHA, M. O. C. **Antibioticoterapia**. Rio de Janeiro: MEDSI, 2001.

SUN, T.; HO, C. T. Antioxidant activities of buckwheat extracts. **Food Chemistry**, v.90, n. 17, p. 743-749, 2005.

SVENDSEN, C.; SPURGEON, D. J.; HANKARD, P. K.; WEEKS, J. M. A review of lysosomal membrane stability measured by neutral red retention: Is it a workable earthworm biomarker. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 57, n. 14, p. 20-29, 2004.

SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica* L.- The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.10, n. 14, p. 63-68, 1959.

TAKAHASHI, T.; KOKUBO, R.; SAKAINO, M. Antimicrobial activities of eucalyptus leaf extracts and flavonoids from *Eucalyptus maculate*. **Letters Applied Microbiology**, v. 39, n. 9, p. 60-64. 2004.

TAVARES, W. **Manual de Antibióticos e Quimioterápicos Antiinfeciosos**. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 1999.

TAYLOR, L. **The Healing Power of Rainforest Herbs. A Guide to Understanding and Using Herbal Medicinals**. Square One Publishers, 2005.

TENOVER, F. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria. **The American Journal of Medicine**, v. 119, n.6, p.3-10, 2006.

THOMPSON, J. H. Interação de drogas. In: BEVAN, JA. **Fundamentos de farmacologia**. São Paulo: Harper e Row do Brasil, 1979, p.24-9.

TORBATI, M.; NAZEMIYEH, H.; LOTFIPOUR, F.; ASNAASHARI, S.; NEMATI, M.; FATHIAZAD, F. Composition and antibacterial activity of *Heracleum transcaucasicum* and *Heracleum anisactis* aerial parts essential oil. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, v.3, n.2, p. 415-418. 2013.

TÔRRES, A. R.; OLIVEIRA, R. A. G.; DINIZ, M. F. F. M.; ARAÚJO, E. C. Estudo sobre o uso de plantas medicinais em crianças hospitalizadas da cidade de João Pessoa: riscos e benefícios. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 4, p. 373-380, 2005.

TRUGILHO, P. F.; CAIXETA, R. P.; LIMA, J. T.; MENDES, L. M. Avaliação do conteúdo de taninos condensados de algumas espécies típicas do cerrado mineiro. **Revista Cerne**, v.3, n.1, p. 1-13, 1997.

TYLER, V. E. Natural products and medicine: an overview. In: BALICK, M.J.; ELISABETSKY, E.; LAIRD, S.A., **Medicinal resources of the tropical forest, biodiversity and its importance to human health**. New York: Columbia University Press, 1996. 410 p.

UGAZ, O. L. **Investigacion Fitoquímica**. 2.ed. Lima: Pontificia Universidade de Peru. Fondo Editorial, 1994.

USHIMARU, P. I.; BARBOSA, L. N.; FERNANDES, A. A.; DI STASI, L. C.; FERNANDES, A. J. In vitro antibacterial activity of medicinal plant extracts against *Escherichia coli* strains from human clinical specimens and interactions with antimicrobial drugs. **Natural Products Research**, v.26, n.16, p.1553-7, 2012.

VAN BAMBEKE, F.; MICHOT, J. M.; TULKENS, P. M. Antibiotics efflux pumps in eukariotic cells: occurrence and impact on antibiotic cellular pharmacocinetcs, pharmacodynamics and toxicodynamics. **Journal of Antimicrobial Chemoterapy**, v.51, n.14, p. 1077-1077, 2003.

VEIGA JÚNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, n.8, p. 519-528, 2005.

VENDRUSCOLO, G. S.; RATES, S. M. K.; MENTZ, L. A. Dados químicos e farmacológicos sobre as plantas utilizadas como medicinais pela comunidade do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, n.11, p. 361-372, 2005.

VENDRUSCOLO, G. S.; MENTZ, L. A. Levantamento etnobotânico das plantas utilizadas como medicinais por moradores do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. **Iheringia, Série Botânica**, v. 61, n. 1, p. 83-103, 2006.

WALSH, C. **Antibiotics: Actions, Origins, Resistance**. ASM Press: Washington, 2003.

WANG, W.; LI, N.; LUO, M.; ZU, Y. Antibacterial activity and anticancer activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to that of its main components. **Molecules**, v.17, n.3, p.2704-2713, 2012.

WEYERMANN, J.; LOCHMANN, D.; ZIMMER, A. A practical note on the use of cytotoxicity assays. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 288, n, 21,p. 369–376, 2005.

WOJTASZEK, P. Oxidative burst: an early plant response to pathogen infection. **Biochemical Journal**, v.322, n.13, p.681-692, 1997.

XU, B. J.; CHANG, S. K. C. Sensory e nutritive qualities of food: A comparative study on phenolics profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. **Journal of Food Science**, v.72, n. 2, p.159-166, 2007.

YU, J.; LIU, X. Y.; YANG, B.; WANG, J.; ZHANG, F. Q.; FENG, Z. L.; WANG, C. Z.; FAN, Q.S. Larvicidal activity of essential extract of *Rosmarinus officinalis* against *Culex quinquefasciatus*. **American Mosquito Control Association**, v.29, n.1, p. 44-48, 2013.

YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. 1.ed. Chapecó: Argos, 2001.312 p.

ZAGO, J. A. A.; USHIMARU, P. I.; BARBOSA, L. N.; JUNIO, A. F. Sinergismo entre óleos essenciais e drogas antimicrobianas sobre linhagens de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de casos clínicos humanos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, n.4, p. 828-833, 2009.